UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1947-1948. Série Etat, n° 28.

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryl-diamidines

THÈSE

présentée

pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

soutenue le 1947

PAR

Claude JEANPIERRE

PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

JURY { MM. G. VALETTE, Professeur, *Président*.
A. SARTORY, Professeur.
R. PARIS, Professeur.

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE M. DECLUME

1947

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du Candidat : **JEANPIERRE**

Prénom : **Claude**

Date de soutenance : .....

Numéro d'ordre : .....

JEANPIERRE (Claude).

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryldiamidines. — *Lons-le-Saunier, Imp. M. Declume, 1947, in-8°, 198 p.*

(Th. Doct. Univ. Pharm., Paris, 1947, Série Etat, N° 23).

JEANPIERRE (Claude).

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryldiamidines. — *Lons-le-Saunier, Imp. M. Declume, 1947, in-8°, 198 p.*

(Th. Doct. Univ. Pharm., Paris, 1947, Série Etat, N° 23).

JEANPIERRE (Claude).

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryldiamidines. — *Lons-le-Saunier, Imp. M. Declume, 1947, in-8°, 198 p.*

(Th. Doct. Univ. Pharm., Paris, 1947, Série Etat, N° 23).

JEANPIERRE (Claude).

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryldiamidines. — *Lons-le-Saunier, Imp. M. Declume, 1947, in-8°, 198 p.*

(Th. Doct. Univ. Pharm., Paris, 1947, Série Etat, N° 23).

UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1947-1948. Série Etat, n° 23.

Contribution à l'étude clinique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* et à ses thérapeutiques curative et préventive, par quelques aryl-diamidines

THÈSE

présentée

pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

soutenue le 1947

PAR

Claude JEANPIERRE

PHARMACIEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

JURY { MM. G. VALETTE, Professeur, *Président.*
A. SARTORY, Professeur.
R. PARIS, Professeur.

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE M. DECLUME

1947

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. René FABRE..... Doyen, ✻, ⚜ I.
Henri SOMMELET. Assesseur, ✻, ⚜ I.
H.-J. LIONNET.... Secrétaire, ✻, ⚜ I.

PROFESSEURS

MM. SOMMELET, ✻, ⚜ I.....	Chimie organique.
FABRE, ✻, ⚜ I.....	Toxicologie.
PICON, ✻, ⚜ I.....	Chimie minérale.
DELABY, ✻, ⚜ I.....	Pharmacie chimique.
MASCRÉ, ✻, ⚜ I.....	Botanique générale.
SARTORY (A.) C. ✻, ⚜ I.	Microbiologie.
FLEURY, ✻, ⚜ I.....	Chimie biologique.
JANOT, ⚜ I.....	Pharmacie galénique.
VALETTE, ⚜ I.....	Zoologie appliquée.
CHARONNAT, ⚜ I.....	Chimie analytique.
BEDEL, ✻, ⚜ I.....	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS.....	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
GUILLOT.....	Physique.
RAOUL.....	Professeur sans Chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✻, ⚜ I.

Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. ✻, ⚜ I., et LEBEAU, O. ✻, ⚜ I, Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✻, ⚜ I., COUTIÈRE, O. ✻, ⚜ I.
BOUGAULT, O. ✻, ⚜ I., LUTZ, ✻, ⚜ I.
GORIS, O. ✻, ⚜ I, HÉRISSEY, O. ✻, ⚜ I.
LAUNOY, O. ✻, ⚜ I.

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

MM. GAUTIER, ⚜ I.	Sciences physiques et chimiques.
N.....	Sciences naturelles.
DOMANGE, ⚜ I.	Sciences physiques et chimiques.
CRÉTÉ.....	Sciences naturelles.
N.....	Sciences physiques et chimiques.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. CORRIEZ, ⚜ I.	Physique.
COURTOIS.....	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
MORETTE, trav. prat. de 2e et 3e années.	Chimie analytique.
Mlle LAMBIN, ⚜ I.	Microbiologie.
MM. HARISPE, trav. pratiques de 1re année.	Chimie générale et pharmaceutique.
N.....	Micrographie.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, ⚜ A.
Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ⚜ A.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

À la mémoire de mon Père.

Emile JEANPIERRE

mort pour la France

à Dachau

le 20 novembre 1944.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550021_0019

A mon Maitre

Monsieur le Professeur L. LAUNOY

officier de la légion d'honneur

Nous lui devons le sujet de ce travail, il a été poursuivi dans son Laboratoire, sous sa direction. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. VALETTE

Il a bien voulu accepter la présidence de cette thèse. Nous l'en remercions bien vivement et l'assurons de nos respects.

A MA MÈRE

dont toute la vie est pour nous
l'exemple de l'abnégation.

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A la mémoire de mon Beau-Père.

François BARRAL

dont la perte nous a si cruellement privé de son affection et de ses conseils.

A TOUS LES MIENS

SOMMAIRE.

Pages.

Avant-propos 17

PREMIÈRE PARTIE.

Généralités sur la morphologie de quelques Trypanosomes et sur la toxicité des diamidines aromatiques, expérimentées dans ce mémoire 19

Chapitre I.

Morphologie d'un Trypanosome 21

Technique d'étude 22

Morphologie de *Trypanosoma equiperdum, T. evansi, T. brucei* 24

Chapitre II.

Etude sur la toxicité de quelques diamidines aromatiques, étudiées par nous 32

A) Quelques données sur les effets des diamidines sur le métabolisme 32

B) Etude de la toxicité du 4.4'diamidinodiphénoxypentane : 34

a) toxicité pour le Cobaye 34

b) toxicité pour le Rat et la Souris 37

c) toxicité pour le Lapin 37

C) Etude sur la toxicité des dérivés substitués du 4.4'diamidinodiphénoxypentane : 38

1°) Dérivé diméthylé 38

a) toxicité pour le Rat blanc 39

2°) Dérivé diéthylé 40

a) toxicité pour le Rat blanc 40

3°) Dérivé dicyclohexylé 41

a) toxicité pour le Rat blanc 41

D) Etude sur la toxicité du 4.4'diamidinodiphénoxyhexane : 42

a) toxicité pour le Cobaye 43

b) toxicité pour le Rat 43

c) toxicité pour le Lapin 45

Pages

E) Etude sur la toxicité des dérivés substitués du 4.4'diamidinodiphénoxyhexane 46
1°) Dérivé tétraméthylé 46
a) Toxicité pour le Rat 46
2°) Dérivé tétraéthylé 47
a) Toxicité pour le Rat 47

F) Tableau récapitulatif de la toxicité des composés étudiés pour certains animaux de Laboratoire 49

DEUXIÈME PARTIE.

Etude des thérapeutiques curative et préventive des trypanosomoses expérimentales par diverses diamidines aromatiques 51

Chapitre III.

I. Etude clinique et biologique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma equiperdum* 53

A) Sur le Cobaye 53
1°) Infections massives 55
2°) Infections sévères 58
3°) Conclusions générales 62

B) Sur la Souris et sur le Rat 63

C) Sur le Lapin 65
1°) Bibliographie 65
2°) Protocoles expérimentaux 66
3°) Conclusions générales sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Lapin 81

II. Etude clinique et biologique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma brucei* : 82

A) du Cobaye, ... 82

B) du Rat et de la Souris. 83

III. Etude clinique et biologique de la Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma evansi* du Cobaye, de la Souris, du Rat et du Lapin 84

Chapitre IV.

Etude de la thérapeutique curative des Trypanosomoses expérimentales par diverses diamidines aromatiques 88
Bibliographie 88

Etude de l'action curative du diamidinodiphénoxypentane.. 91

1°) Etude de l'action curative sur la Trypanosomose à *Trypanosoma equiperdum* 91
a) du Cobaye 91
b) du Rat et de la Souris 105

Pages

c) du Lapin 105
d) Tableau récapitulatif des recherches poursuivies sur le Cobaye, le Rat et le Lapin 114
2°) Etude de l'action curative sur la Trypanosomose à *Trypanosoma evansi* du Cobaye 114
3°) Etude de l'action curative sur la Trypanosomose à *Trypanosoma brucei* 115

Chapitre V.

Etude de l'action curative de quelques dérivés substitués du diamidinodiphénoxypentane 117
1°) Etude de l'action du dérivé diméthylé 117
Action curative sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat 117
2°) Etude de l'action du dérivé diéthylé 118
Action curative sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat 118
3°) Etude de l'action du dérivé dicyclohexylé..... 120
Action curative sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat 120
4°) Conclusions sur les dérivés substitués du 4.4'diamidinodiphénoxypentane 121

Chapitre VI.

Etude de l'action curative du diamidinodiphénoxyhexane.. 122
1°) Action curative sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* 122
a) du Cobaye 122
b) du Rat 126
c) du Lapin 132
2°) Action curative sur la Trypanosomose à *T. brucei* du Rat 135
3°) Action curative sur la Trypanosomose à *T. evansi* du Cobaye 138

Chapitre VII.

Etude de l'action curative des dérivés substitués du diamidinodiphénoxyhexane 140
1°) Etude de l'action du dérivé tétraméthylé sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat 140
2°) Etude de l'action du dérivé tétraéthylé sur la Trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat 142

Pages

CHAPITRE VIII.

Etude de la Thérapeutique préventive des Trypanosomoses expérimentales par diverses diamidines aromatiques 144

A) Introduction 144

B) Etude de l'action préventive du diamidinodiphénoxypentane sur la Trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum* 145

1°) du Rat 145

2°) du Cobaye 145

3°) du Lapin 152

4°) Tableau récapitulatif des recherches poursuivies sur le Cobaye, le Rat et le Lapin 158

C) Etude de l'action préventive de dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxypentane sur la Trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum* 159

1°) Etude de l'action du dérivé diméthylé 159
sur l'infection à *T. equiperdum* du Rat..... 159

2°) Etude de l'action du dérivé diéthylé 160
sur l'infection à *T. equiperdum* du Rat..... 160

3°) Etude de l'action du dérivé dicyclohexylé 163
sur l'infection à *T. equiperdum* du Rat..... 163

4°) Conclusions sur l'effet des substitutions dans l'activité préventive effectuées sur le diamidinodiphénoxypentane 165

CHAPITRE IX.

A) Etude de l'action préventive du diamidinodiphénoxyhexane sur les Trypanosomoses expérimentales à *T. equiperdum* 167

1°) du Rat 167

2°) du Cobaye 174

3°) du Lapin 176

B) Etude de l'action préventive de dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane 176

1°) Etude de l'action du dérivé tétraméthylé 176
sur l'infection à *T. equiperdum* du Rat 176

2°) Etude de l'action du dérivé tétraéthylé 178
sur l'infection à *T. equiperdum* du Rat 178

CHAPITRE X.

Recherches sur l'immunité après surinfection chez des animaux préalablement guéris d'une Trypanosomose à *T. equiperdum* 179

A) Expériences sur le Rat, après guérison de ces animaux par l'Hexamidine 179

B) Expériences sur le Cobaye, après guérison de ces animaux par la Lomidine ou Pentamidine 182

Pages

CHAPITRE XI.

Les Ratons nés de mères guéries par le diamidinodiphénoxyhexane sont-ils réfractaires à une infection homologue .. 185

CHAPITRE XII.

Conclusions générales 187

TABLE DES FIGURES.

Fig. 1..... *T. equiperdum* 23

Fig. 2..... *T. evansi* 25

Fig. 3..... *T. brucei, T. equiperdum, T. evansi* 30

Fig. 4..... Courbe évolutive de l'infection à *T. equiperdum* chez le Cobaye témoin 58

Fig. 5..... Courbe évolutive de l'infection à *T. equiperdum* chez le Cobaye traité par une dose curative de 4.4'diamidinodiphénoxypentane 95

AVANT-PROPOS.

Le but du travail que nous présentons aujourd'hui pour obtenir le diplôme de Docteur en Pharmacie (diplôme d'Etat), était de provoquer l'état réfractaire des animaux de Laboratoire, contre les trypanosomoses expérimentales, par un traitement chimique approprié. Les corps chimiques dont nous nous sommes servi sont le 4.4' diamidinodiphénoxypentane, le 4.4' diamidinodiphénoxyhexane et des dérivés de ces deux corps.

Le point de départ de ces recherches se trouve :

1° Dans les travaux de KING, LOURIE et YORKE (1937), relatifs à l'action trypanocide de diamidino-composés.

2° Dans les travaux de L. LAUNOY et H. LAGODSKY (1940) sur l'action préventive contre les infections à Trypanosomes, exercée par ces mêmes diamidino-composés.

Notre étude a particulièrement pour objet la définition des actions curative et préventive d'un certain nombre de composés diamidinés sur la Trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum* des petits animaux de laboratoire : Cobaye, Lapin, Rat, Souris. Cette étude qui a été faite sur de nombreux animaux placés dans des conditions variées d'infection, nous a tout d'abord entraîné à définir d'une façon très stricte les symptômes caractéristiques de l'infection expérimentale chez les différents animaux employés. Une longue étude clinique a donc précédé celle de la thérapeutique curative et préventive, de même qu'une étude de la toxicité des produits employés nous a tout d'abord longuement arrêté.

Nos résultats sont présentés en douze chapitres, eux-mêmes divisés en deux parties. La première partie comprend les trois premiers chapitres dans lesquels nous rapportons les expériences préliminaires à nos recherches de thérapeutique curative et préventive et dont le sujet est exposé ci-dessus.

Dans la seconde partie sont consignées les expériences de thérapeutique curative et préventive à proprement parler. Les deux derniers chapitres de cette seconde partie ont été consa-

crés à l'étude de l'immunité après surinfection chez les animaux préalablement guéris d'une Trypanosomose à *T. equiperdum* et à la recherche de l'immunité chez les Ratons d'une mère guérie de cette même Trypanosomose. Dans ces deux derniers chapitres, nous avons confirmé pour *T. equiperdum* et pour le diamidinodiphénoxyhexane les conclusions que Mlle M. Dauzier apporte dans un travail de ce Laboratoire (1945), travail consacré à l'immunité contemporaine d'un traitement chimique dans la Trypanosomose expérimentale à *T. brucei*, traitée par certains dérivés arsénoïques.

Le sujet de cette thèse nous a été proposé par M. le Professeur L. Launoy. Nous l'avons poursuivi sous sa haute direction et avec son aide constante. Nous lui renouvelons ici l'expression de toute notre reconnaissance.

Que M. le Professeur G. Valette trouve ici l'expression de notre reconnaisance pour la bienveillance qu'il ne cesse de nous témoigner.

Nos respectueux remerciements vont également à M. le Professeur Sartory qui a bien voulu accepter de nous entendre exposer les conclusions de notre travail.

Que M. le Professeur P. Paris près duquel nous avons toujours trouvé le meilleur accueil veuille bien recevoir ici nos sincères remerciements.

Nous remercions aussi nos camarades de laboratoire et tout particulièrement Mlle M. Prieur, M. H. Lagodsky, Mlle Yvonne Landru, à l'aide et aux conseils desquels nous avons souvent fait appel.

PREMIÈRE PARTIE.

Introduction morphologique sur certains Trypanosomes et toxicité de diamidines aromatiques trypanocides, pour quelques animaux de laboratoire.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I.

INTRODUCTION MORPHOLOGIQUE.

Morphologie d'un Trypanosome.

Les trypanosomes (τρύπανον tarière et σῶμα corps) appartiennent à l'embranchement des Protozoaires, classe des Flagellés, ordre des Holomastigines monoflagellés. Leur corps est fusiforme à ligne hydrodynamique ; on y trouve un noyau unique et un appareil chromatique spécial, en rapport avec le flagelle.

La partie postérieure du corps de ces Protistes est intéressante à considérer, d'abord parce qu'elle renferme le plus habituellement l'appareil chromatique, et aussi en raison de ses variations de forme. Nous devons préciser que nous n'avons en vue que le seul genre *Trypanosoma* et les espèces de ce genre, parasites des animaux domestiques et de l'Homme. Nos recherches personnelles n'ont trait d'ailleurs qu'à des espèces parasites des animaux domestiques.

La partie postérieure des Trypanosomes étudiés par nous (*T. brucei*, *T. equiperdum*, *T. evansi*) est essentiellement variable de forme d'une espèce à l'autre et même à l'intérieur de l'espèce. L'appareil chromatique postérieur qui s'y trouve le plus souvent inclus est un organite véritablement spécifique de ces Trypanosomes. D'ores et déjà, disons que nous le considérons comme formé de deux parties, le blépharoplaste, granule extrêmement petit, en rapport avec l'extrémité postérieure du flagelle et le corps parabasal, situé à une distance plus ou moins éloignée, parfois très courte du blépharoplaste. L'ensemble blépharoplaste et corps parabasal constitue le kinetonucleus (Hoare) [1 à 4].

La conception que nous donnons sur l'appareil chromatique postérieur ressort de toute évidence de nos préparations. Elle s'accorde avec l'opinion de Lavier [5 à 7]. Disons toutefois que par la méthode de Romanowsky-Giemsa, le blépharoplaste proprement dit est souvent confondu avec le corps parabasal, en particulier chez *T. equiperdum* et difficile à mettre en évidence, mais on y réussit par une différenciation appropriée. Des noms variés, ayant plus ou moins la prétention d'exprimer une signification physiologique ont été donnés par les auteurs aux deux formations chromatiques de l'appareil postérieur.

A la masse (corps parabasal) on a donné le nom de *kinétoplaste* (Alexeieff, Hoare) [8 à 9], *kinétonucleus* (Minchin) 10] ; *micronucleus* (Plimmer et Bradford) [11], *nucléole* (Rabinowitsch et Kempner) [12] ; *blépharoplaste* (Laveran et Mesnil) [13 à 14] ; *centrosome* (Laveran et Mesnil), *noyau blépharoplastique* (Rosenbusch) [15], *centrosome extra-nucléaire* (Moore et Breinl d'après Laveran).

Or, nous l'avons dit, il faut distinguer dans l'appareil chromatique deux éléments : le *blépharoplaste*, grain où s'insère directement le flagelle, blépharoplaste qui serait un centre de mouvement, et le *corps parabasal* beaucoup plus volumineux que le précédent, pour lequel on a employé le terme de centrosome et qui serait (peut-être) un centre de division (Alexeieff) [8 à 9]. L'expression : *corps parabasal* ne préjuge rien sur la fonction de ce corpuscule chromatique et nous pensons que dans l'état actuel de la cytologie de ces Protozoaires, il est préférable de renoncer à des appellations non justiciables de démonstration.

Technique d'étude.

Notre étude morphologique a été faite selon la technique ci-dessous décrite :

Une goutte de sang de Souris infectée par *Trypanosoma equiperdum* est prélevée après légère amputation de l'extrémité de la queue, puis étalée rapidement sur une lame dégraissée. Après séchage rapide, le frottis est coloré suivant la méthode panoptique de Romanowsky-Giemsa. Nous nous sommes arrêté, après de nombreux essais, aux deux variantes de technique suivantes :

1° Après fixation au May-Grünwald : recouvrir les lames de 20 gouttes de réactif de May-Grünwald (marque Grübler ou Kuhlmann), les laisser agir 2 minutes 30 secondes ; recouvrir de 20 gouttes d'eau distillée à pH 7.2 et laisser une minute ; rejeter le colorant et recouvrir les lames d'une solution de Giemsa rapide (Grü-

bler ou Kuhlmann) à 80 gouttes par 30 cm³ d'eau distillée à pH 7,2 ; rejeter aussitôt et recouvrir à nouveau de la solution de Giemsa ; laisser agir quinze minutes ; rincer à l'eau et sécher.

Fig. 1.

2° Après fixation par l'alcool méthylique : immerger le frottis frais, avant dessiccation, dans l'alcool méthylique absolu pendant

vingt minutes puis appliquer sans sécher le réactif de May-Grünwald et continuer comme ci-dessus. Toutefois, porter le temps d'action du Giemsa dilué à soixante minutes.

Cette seconde technique permet une plus fine coloration du protoplasma.

L'examen des frottis est pratiqué au microscope à immersion. Les mensurations sont faites soit directement à l'aide d'un micromètre oculaire étalonné, soit après reproduction à la chambre claire. Dans ce deuxième cas, nous avons utilisé un objectif microscopique Nachet de 1/18 et la chambre claire de Nachet, montée sur un oculaire n° 15 ; le tube du microscope est tiré à 200 (distance en millimètres des deux foyers de l'ensemble optique). Les mensurations sur reproduction sont faites au curvimètre simplifié avec report sur l'échelle ; celle-ci figure la reproduction dans les mêmes conditions d'observation d'un micromètre objectif au 1/100 de millimètre.

Morphologie de *T. equiperdum, T. evansi, T. brucei.*

1° *Trypanosoma equiperdum.*

Ce parasite fait l'objet principal de notre étude.

Origine. — Entretenu au laboratoire depuis novembre 1945, il nous a été adressé de Londres par le Laboratoire de Recherches de la Société May et Baker ; cette souche provenait elle-même de Medical Research Council ; elle en était à son cent trente huitième passage. Elle était et reste conservée sur souris blanche.

Description générale. — Les formes étudiées ont été celles du sang de souris albinos, infectées par voie sous-cutanée, depuis quarante-huit et quatre-vingt-seize heures. *Trypanosoma equiperdum* est classé par Lavier, puis par Curasson [**16**] dans les trypanosomes polymorphes. Mais les formes sans flagelle libre qui semblent justifier cet avis sont si rares qu'on le considère comme essentiellement monomorphe, rejoignant alors l'avis et la classification de Hoare et de Coutelen.

Notre souche présente un corps en fuseau, prolongé à la partie antérieure par un fouet libre; le flagelle est relié au corps protoplasmique par une fine membrane ondulante plissée. La partie postérieure du corps se termine soit en pointe, soit plus souvent arrondie, émoussée et plus rarement en cône tronqué ; rappelons l'opinion de Curasson (l. c.) pour lequel un trypanosome qui, adulte, aura cette partie émoussée, l'a en général

aiguë quand il vient de se diviser ; cet auteur a vu quelquefois l'extrémité postérieure de sa souche présenter deux pointes. Dans cette zone, inclus dans le protoplasma, se situe l'ap-

Fig. 2.

pareil chromatique. Il apparaît inévitablement comme une petite masse intensément colorée en rouge violacé, dans laquelle on pourra, mais parfois avec difficulté, distinguer l'existence

de deux éléments constitutifs : le blépharoplaste et le corps parabasal.

Nous n'avons pas étudié la taille, la forme ou la position de ces éléments, mais leur ensemble, car comme nous l'avons dit ci-dessus, on sait depuis Minchin [10] qu'avec le Romanowsky-Giemsa, le colorant tend à se déposer autour de la structure qu'elle colore et donne un résultat plus grand dont les composants sont indifférenciables le plus souvent. Toutefois, chez certaines cellules, la séparation des deux éléments est faite nettement (fig. 1).

Au contraire de *T. equiperdum, Trypanosoma evansi* nous permettra facilement la séparation du blépharoplaste et du corps parabasal (fig. 2).

Du blépharoplaste part un flagelle, plissé en de longues ondulations, qui se colore en rose ; sur certaines images, on trouve deux corps chromatiques de chacun desquels part un flagelle. Près du corps chromatique, légèrement vers l'avant, apparaît souvent une petite vacuole plus nette sur les lames fixées à l'alcool et peu exposées au Giemsa.

Plus loin, vers le deuxième tiers de l'animal apparaît une autre masse chromatique fortement colorée en rouge Bordeaux ; c'est le noyau du Protozoaire ; il ne paraît pas homogène mais formé de granulats juxtaposés, plus ou moins fins, qui se disposent souvent en zones irrégulières, notamment en couronne ou en formation bipolaire ; il peut se diviser et fournir deux noyaux fils dont l'un émigre vers la partie antérieure. Cette scission est toujours précédée par l'apparition de deux corps chromatiques postérieurs.

Le protoplasma apparaît hétérogène, parsemé de vacuoles, de zones plus ou moins condensées et d'assez nombreuses et grosses granulations colorées en rouge vineux, presqu'uniquement localisées dans la partie antérieure et souvent contiguës.

Mensuration. — Nous avons successivement mesuré :

1° La longueur du flagelle depuis le corps chromatique jusqu'à son extrémité.

2° La longueur du corps en prenant comme guide une ligne médiane idéale, y compris la partie libre du flagelle, en raison de la difficulté à déterminer la fin du protoplasma.

3° La distance de la partie postérieure au centre du noyau.

4° La distance de la partie postérieure au corps chromatique.

5° La largeur au niveau du noyau, membrane ondulante exclue.

Le tableau ci-dessous résume les observations faites sur de nombreux individus avec leur moyenne et les extrêmes, établies en μ.

La planche ci-jointe fournit la reproduction à la chambre claire de quelques parasites.

Longueur du flagelle		Corps + flagelle libre		Partie postérieure au centre du noyau		Partie postérieure au corps chromatique	
Moyenne	Extrêmes	M.	Ext.	M.	Ext.	M.	Ext.
22,8	19 à 30	18,9	16 à 25,5	7,3	6 à 9	1,4	0 à 4,5

Largeur		Partie postérieure		Corps parabasal	
Moyenne	Extrêmes	Tronquée	Aiguë	Terminal	Non terminal
2,3	1,2 à 4,5	82,5 p. 100	17,5 p. 100	8 p. 100	92 p. 100 dont 15 p. 100 latéral

2° *Trypanosoma evansi.*

Origine. — Institut Pasteur, Paris. Professeur Roubaud.

Cette souche de Surra, parvenue au Laboratoire le 21 février 1944 est entretenue sur souris albinos et sur cobaye.

Moyens d'étude. — La morphologie de ce virus a été étudiée dans les mêmes conditions que *T. equiperdum*. Les frottis ont été faits avec du sang de souris quatre-vingt-seize heures après l'infection sous-cutanée.

Description générale. — Le polymorphisme de *Trypanosoma evansi* est très réduit et à son sujet se rejoignent les opinions de Lavier (l. c.), de Curasson (l. c.) et celles de Hoare et Coutelen (l. c.). L'aspect de *T. evansi* est assez peu différent de celui de *T. equiperdum*. La partie postérieure rarement aiguë (11 p. 100) est arrondie ou plus souvent tronquée ; mais ces dernières formes ont une ligne de section oblique par rapport à l'axe longitudinal du parasite, alors que chez *T. equiperdum*, la ligne de section était perpendiculaire à cet

axe. Nous avons observé quelques images où cette partie postérieure était scindée en deux pointes mousses de même longueur.

A la différence de *T. equiperdum*, le complexe corps chromatique se différencie. En effet, le flagelle n'aboutit pas au point sphérique décrit chez *T. equiperdum*. Le flagelle semble se terminer dans la masse du protoplasma ; quelquefois, il se termine par un léger renflement qui constitue le blépharoplaste ; soit dans son prolongement soit l'un à côté de l'autre est figuré le corps parabasal. Chez un certain nombre de parasites, on note la disparition du corps parabasal (1) ; les numérations effectuées nous permettent de chiffrer à 3 p. 100 environ ces formes aberrantes. Précisons toutefois que même chez ces formes, on peut observer la présence du blépharoplaste à la naissance du flagelle.

Enfin, la majorité des parasites présente des granulations intensément colorables en rouge violacé et localisées en général dans la partie antérieure.

Mensuration. — Les mesures effectuées dans les mêmes conditions que pour *T. equiperdum* sont relevées et résumées dans le tableau ci-joint. Une planche de reproductions à la chambre claire permet de comparer ce parasite au précédent.

Longueur du flagelle		Corps + flagelle libre		Partie postérieure au centre du noyau		Partie postérieure au corps chromatique	
Moyenne	Extrêmes	M.	Ext.	M.	Ext.	M.	Ext.
26,5	22 à 31	21,8	17,5 à 25,5	7,3	6,5 à 10	1,5	0,5 à 3

Largeur		Partie postérieure		Corps parabasal	
Moyenne	Extrêmes	Tronquée	Aiguë	Terminal	Non terminal
2,3	1,5 à 3,5	89 p. 100	11 p. 100	3 p. 100	97 p 100 dont 24 p. 100 latéral

(1) Rappelons que pour *T. equinum* l'absence du corps parabasal est la règle.

3° *Trypanosoma brucei.*

Origine. — Nous disposons pour notre étude de deux souches de *T. brucei.*

L'une est originaire de l'Institut Pasteur (Professeur Mesnil), elle est entretenue au Laboratoire sur souris albinos depuis 1924.

L'autre, entrée au laboratoire le 28 novembre 1945, grâce à May and Baker, avait été fournie à ces laboratoires par Welcome Fondation Laboratories ; elle est arrivée à notre laboratoire au passage n° 164 ; c'est notre souche Londres.

Description générale. — Les formes étudiées ont été celles du sang de souris albinos, infectées, par voie sous-cutanée, depuis 48 et 72 heures. Notons tout de suite que *T. brucei*, quelle que soit son origine, a montré une grande similitude d'aspect général, de forme et de taille.

Le corps en fuseau est prolongé par un fouet libre ; le flagelle est relié au corps protoplasmique par une fine membrane ondulante dont les plis sont plus profonds et plus nombreux que chez *T. evansi* ou *T. equiperdum* (fig. 3).

La partie postérieure du corps se termine soit en pointe, soit plus souvent en cône brusquement coupé perpendiculairement à l'axe du corps.

Mensuration. — Les mêmes mensurations ont été relevées par les mêmes procédés que pour l'étude des virus déjà décrits.

Nous avons numéré les parasites à partie pointue ou tronquée et les positions relatives de l'appareil chromatique en terminale ou non.

Dans toutes ces mensurations dont le résultat est résumé dans les deux tableaux ci-joints, nous ne trouvons pas de différence sensible entre les deux souches, hormis celle concernant la position du corps chromatique. Cette modification dans la structure morphologique des deux souches permet de différencier les deux virus sans avoir recours aux tests biologiques. En effet, un examen attentif suffit pour remarquer au delà du corps chromatique un grand prolongement protoplasmique presque toujours carré du bout donnant à de nombreux parasites un aspect dit en « tête d'hippocampe » chez *T. brucei*, souche Londres seulement.

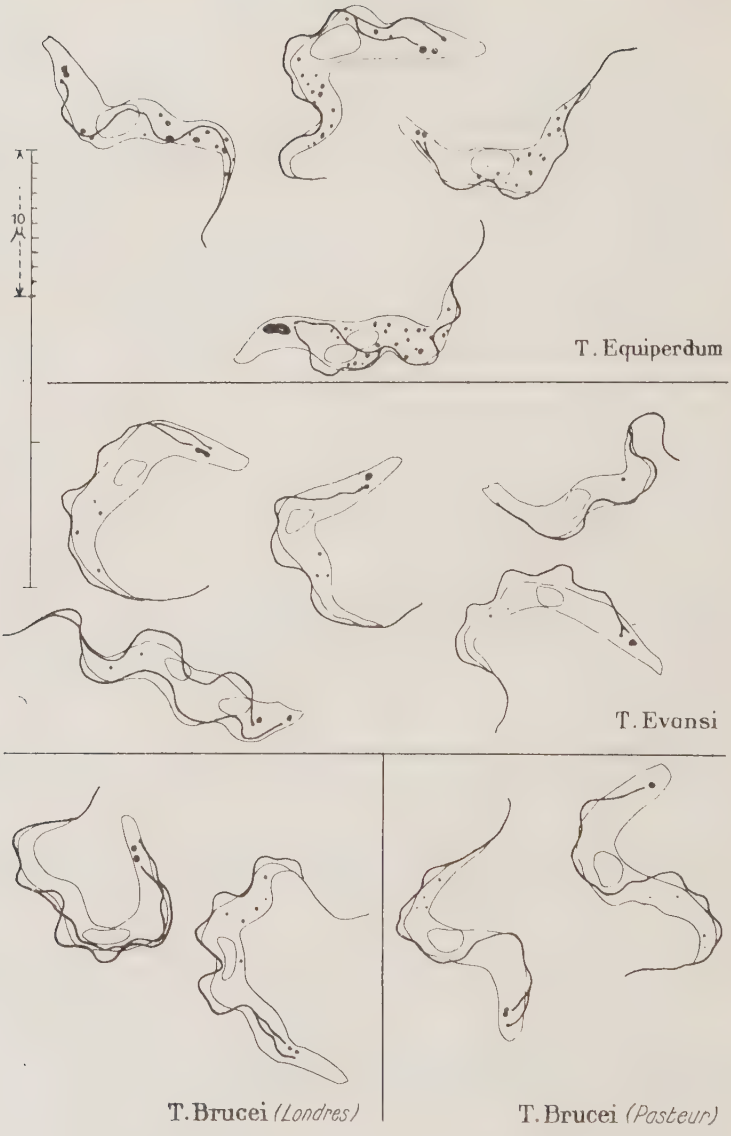


Fig. 3.

Virus	Longueur du flagelle		Corps et flagelle libre		Partie postérieure au centre du noyau		Largeur		Partie postérieure	
	Moyenne	Extrêmes	M.	Ext.	M.	Ext.	M.	Ext.	Tronquée	Pointue
									p. 100	p. 100
Londres.....	28,5	23 à 33	24,4	22 à 26	8,8	7 à 11	2,5	1,5 à 4	73,8	26, 2
Pasteur	28,4	25 à 34	22,7	20 à 24	8,6	7 à 11	2,2	1,5 à 3	75,6	24,4

	Distance de la partie postérieure au corps chromatique		Position du corps chromatique	
	Mesure au micromètre oculaire	Mesure après reproduction à la ch. claire	Terminale	Non terminale
Londres	2,9	2,1	4,6 p. 100	95,4 p. 100
Pasteur.....	1,8	1	24,8 p 100	75,2 p. 100
Différence ..	1,1	1,1		

Conclusion. — Les trois parasites et les quatre souches dont nous venons de décrire l'apparence, montrent peu de différences morphologiques. Nous allons voir par contre de fortes dissemblances, dans l'étude symptomatologique et thérapeutique qui va suivre.

CHAPITRE II.

ÉTUDE SUR LA TOXICITÉ DE QUELQUES DIAMIDINES.

A) Quelques données sur les effets des diamidines aromatiques sur le métabolisme.

Sans entreprendre une revue critique sur ce sujet, rappelons simplement les points principaux. Wien R. [17] étudie de façon très précise la toxicité de diverses diamidines sur la Souris, le Rat, le Lapin ; cet auteur observe une dépression générale du système nerveux central ; les animaux sont incapables de se tenir sur leurs pattes, ils sont prostrés malgré quelques convulsions de type clonique et une légère ataxie des pattes. La respiration, d'abord accélérée, devient lente et forcée avec quelquefois une courte période de dyspnée, voire même d'apnée, due probablement à des spasmes des bronchioles. La mort est due à un arrêt respiratoire. La température rectale baisse brusquement. La pression sanguine subit une chute marquée. Cette baisse ne semble pas attribuable à une diminution directe de l'activité du cœur dont le muscle est au contraire stimulé, mais à une réaction du système coronaire et à une vasodilatation générale du système artériel. L'atropine corrige sans annuler cette action dépressive. Le tonus et le mouvement des muscles lisses (intestin isolé de Lapin, utérus de Cobaye) sont augmentés.

Allen J. W., Burgess F. et Cameron G. R. [18] étudient plus spécialement le 44' Diamidino-diphénoxypropane, dans le but de déterminer, entre autres, les changements pathologiques produits dans les organes.

Le foie subit une profonde atteinte de la cellule hépatique avec nécrose et dégénérescence graisseuse. Les reins sont le siège d'altérations de type néphrite tubulaire, mais sans né-

crose. Foie et reins sont très congestionnés. Le muscle cardiaque est quelquefois touché. Les œdèmes pulmonaires conduisent à la mort. Les réactions au point d'injection sous-cutanée légères au début, peuvent s'aggraver et provoquer de l'œdème, des hémorragies, de la nécrose musculaire et même de l'inflammation chronique. En dehors d'une légère leucocytose, ces auteurs n'observent pas de changements sanguins caractéristiques.

Kirk R. et Henry A. J. [19] travaillent sur le diamidinostilbène que Kirk R. et Sati M. H. [20 à 21] avaient déjà utilisé avec succès dans le Kala-azar. Ils confirment la chute de pression sanguine, les troubles respiratoires, observent des douleurs épigastriques avec vomissements et crises syncopales. Comme Napier et Sen [22] et Lourie et Yorke [23], ils notent de la salivation et de l'incontinence des urines et des fèces.

Quant à la différence de toxicité des diverses diamidines, les avis divergent : les diphénoxy sont plus toxiques pour Wien (l. c.), Kirk et Henry (l. c.) que le dérivé du stilbène. Lourie [24], Napier et Sen Gupta [25] sont de l'avis opposé.

Enfin, il faut rappeler l'importance de la date de la solution et de son exposition à la lumière qui augmentent notablement la toxicité (Kirk et Henry) (l. c.), (Fulton et Yorke) [26], (Barber, Slack et Wien [27], du moins pour certaines diamidines.

Quant aux effets métaboliques des diamidines, rappelons seulement les conclusions les plus importantes. Devine [28] ne trouve pas de réactions sensibles sur la glycémie sauf aux très fortes doses (Diamidinostilbène) qui sont hyperglycémiantes dans les premières heures. Par contre, l'urée sanguine croît fortement, mais pour peu de temps. Broom [29] qui étudie diverses diamidines pense que l'hyperglycémie ou l'hypoglycémie varie suivant la structure du produit, sa dose et la teneur du foie en glycogène. Wien, Freemann et Scotcher [30] ont étudié de façon systématique les effets métaboliques de quelques diamidines. Rappelons seulement quelques-unes de leurs conclusions qui portent sur l'expérimentation de : 4.4' diamidinodiphényléther, 4.4' diamidinostilbène, 4.4' diamidinodiphénoxypropane et 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Ces composés affectent la glycémie seulement aux doses voisines de la dose toxique. L'effet principal est une hyperglycémie et le dérivé du diphényléther a l'effet le plus faible. Le

dérivé du propane est le seul composé qui produise un état consécutif d'hypoglycémie.

L'administration de doses faibles et répétées provoque une chute marquée du glycogène hépatique, mais ceci peut être dû partiellement à l'anorexie.

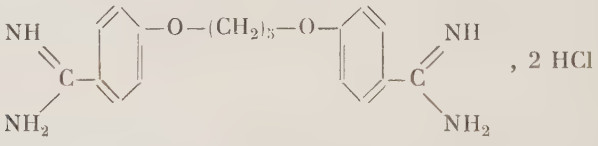
Il y a une action sur les reins, mise en évidence par l'accroissement de l'urée sanguine et de l'azote non protéique. L'augmentation obtenue l'est avec des doses qui n'influent pas la glycémie.

Chez le Chien et le Lapin, le calcium et le potassium sanguins sont diminués pendant quelques heures.

L'examen des éléments figurés du sang de Cobaye ne montre pas de grands changements chez les hématies et leucocytes, hormis une leucocytose polynucléaire précédant la mort aux doses léthales.

B) Etude de la toxicité du 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Ce dérivé organique est utilisé par nous sous forme de dichlorhydrate (1). Il répond à la formule $C_{19}H_{24}O_2N_4$,2 HCl. Le poids moléculaire est de 413, celui de la base : 340.



Il se présente sous la forme d'une poudre blanche, finement cristallisée. La solution aqueuse s'obtient par un chauffage léger ; elle est limpide. Le pH d'une solution à 2/100 est de 4,3.

a) Toxicité sur le Cobaye.

Expérience n° 23, 5 juin 1946.

Onze Cobayes mâles de 380 à 540 grammes, numérotés de 43 à 53 sont mis en expérience. Le Cobaye n° 48 est conservé comme témoin de survie, tandis que les dix autres reçoivent par voie sous-cutanée, une solution de diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 100 dans du sérum physiologique glucosé

ClNa	9 g.	aux doses suivantes :
Glucose	1 g.	
H_2O	1000 cm^3	

(1) Dans la pratique, on utilise aussi le méthanesulfonate, poids moléculaire 532 et l'iséthionate, poids moléculaire 592, en raison de leur plus grande solubilité.

N°s 43 et 49, 2 mg. p. 100 ; 44 et 50, 3 mg. p. 100; 45 et 51, 4 mg.; 46 et 52, 5 mg. p. 100 ; 47 et 53, 6 mg. p. 100.

Pour les deux Cobayes n°s 47 (465 grammes) et 53 (400 grammes), la dose de 6 mg. p. 100 est toxique ; la mort survient respectivement en six et huit jours (11/VI et 13/VI).

L'autopsie du Cobaye n° 47 révèle, en plus d'une escarre au point d'injection, la présence de deux à trois centimètres cubes de liquide d'ascite, et une perturbation dans le fonctionnement du tube digestif, l'intestin grêle et le gros intestin sont dilatés de matières fécales diarrhéiques, tandis que l'estomac montre *quelques petits ulcères circulaires non perforés.*

Le Cobaye n° 53 révèle aussi un état diarrhéique prononcé et meurt après un amaigrissement de 100 grammes.

La dose de 5 milligrammes p. 100 est mortelle pour les deux Cobayes n°s 46 (470 grammes) et 52 (390 g.) respectivement en neuf et cinq jours. Le Cobaye 46 présente de très nombreux ulcères gastriques non perforés, ainsi que des selles diarrhéiformes. A la mort, l'animal a perdu 170 grammes, soit plus du tiers du poids initial.

Le Cobaye n° 45, de 420 grammes qui a reçu 4 mg. p. 100 meurt en vingt jours, le 25 juin, après quelques jours de forte diarrhée et un amaigrissement de 140 grammes, soit d'un tiers du poids initial. A l'autopsie, les intestins sont remplis de matières liquides, mais l'estomac ne présente pas d'ulcérations. Dix centimètres cubes environ de liquide d'ascite baignent la cavité générale.

Le Cobaye n° 51 (4 milligrammes) de 540 grammes survit à l'inoculation.

Après 3 milligrammes p. 100, les deux Cobayes n° 44 de 490 grammes et n° 50 de 400 grammes survivent sans troubles apparents et augmentent de poids.

Après 2 milligrammes p. 100, le cobaye 43 de 405 grammes meurt en dix-neuf jours, après déjections diarrhéiques et amaigrissement de quatre-vingt quinze grammes. Le gros intestin et l'intestin grêle sont dilatés de matières liquides, tandis que la cavité générale est baignée de cinq centimètres cubes environ de liquide d'ascite.

Le Cobaye n° 49 survit et grossit.

Expérience n° 11, 25 avril 1946. — Cinq cobayes mâles reçoivent par voie sous-cutanée, une solution de diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 1000 dans du sérum physiologique isotonique aux doses suivantes :

N° 11, 270 grammes : 1 mg. p. 100 ; n° 12, 290 grammes, 1,5 mg. p. 100; n° 13, 205 grammes : 2 mg. p. 100; n° 14, 305 grammes : 2,5 mg. p. 100, n° 15, 210 grammes, 5 mg. p. 100.

Les Cobayes 11, 13 et 14 survivent mais présentent une légère escarre au point d'injection, dès le deuxième jour pour le n° 11 et le quatrième jour (n° 14), ou un peu plus tardive, neuvième jour pour le n° 13. Mais la cicatrisation est rapide, la nécrose régresse et les poils repoussent sans laisser de trace apparente de l'incident. Le Cobaye n° 12 (1,50 mg. p. 100), par contre, aggrave sa lésion cutanée et meurt en onze jours avec un amaigrissement

de 110 grammes et une hypothermie préagonique (37°6 la veille de la mort).

Le Cobaye n° 15 (5 mg. p. 100) meurt en vingt-quatre heures ; l'autopsie révèle la présence de 10 cm³ d'ascite et de matières fécales molles, les poumons sont hémorragiques avec infarctus supérieur bilatéral.

Expérience n° 20, 28 mai 1946.

Huit Cobayes mâles de 500 à 780 grammes, n°ˢ 26 à 34 (le Cobaye 30 est conservé comme témoin) reçoivent par voie sous-cutanée, une solution de diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 1000 dans du sérum physiologique aux doses de : n°ˢ 26 et 27, 0,25 mg. p. 100 ; 28 et 29, 0,50 mg. p. 100 ; 31 et 32, 0,75 mg. p. 100 ; 33 et 34, 1 mg. p. 100.

Tous supportent sans lésion apparente ces injections et survivent.

Expérience n° 46, 3 septembre 1946.

Les cinq Cobayes mâles n°ˢ 77 à 81, de 390 à 470 grammes, reçoivent, par voie sous-cutanée, en deux fractions égales de 1,50 mg. p. 100 à quarante-huit heures d'intervalle, 3 milligrammes p. 100 de diamidinodiphénoxypentane, en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée.

Les Cobayes 79 et 80 survivent et augmentent de poids.

Les Cobayes 77, 78 et 81 meurent respectivement sept, six et six jours après la seconde injection. Ils ont perdu 140 grammes (sur 390), 150 (sur 470) et 150 (sur 430 grammes). Les autopsies révèlent chez les trois Cobayes des matières liquides dans tout le tractus intestinal et un chyme gastrique également liquide.

Expérience n° 22, 22 juillet 1946. — Le Cobaye n° 59 de 430 grammes reçoit, par voie sous-cutanée une solution de diamidinodiphénoxypentane à 1/200 dans l'eau distillée. Nous injectons 2 mg. p. 100 en deux doses fractionnées égales de 1 mg. p. 100 à quarante-huit heures d'intervalle. Après un léger amaigrissement (370 g. le 29.7) l'animal se remet, reprend son poids initial et survit.

Conclusions générales. — Le diamidinodiphénoxypentane, injecté au Cobaye par voie sous-cutanée, en une seule dose est toxique à partir de 1,5 mg. p. 100 ; mais on peut observer des survies après 2 mg. (deux sur trois Cobayes), 3 mg. (deux sur deux) et 4 mg. (un sur deux). A 5 et 6 mg. p. 100, tous les animaux succombent en quelques jours (un à neuf jours).

L'autopsie des Cobayes morts de toxicité révèle des troubles intestinaux avec selles diarrhéiques, quelquefois ulcères gastriques et liquide d'ascite.

Les doses inférieures ou égales à 1 mg. p. 100 par voie sous-cutanée ne sont pas toxiques pour le Cobaye.

En deux doses fractionnées à quarante-huit heures d'inter-

valle, 2 mg. p. 100 sont supportés, tandis que 3 mg. p. 100 entraînent la mort de trois Cobayes sur cinq. Pour Van Hoof, Henrard et Peel [31] il semble que la dose de 0,003 g. par kilog. par injection, est la plus grande dose tolérée si on la répète, car les effets toxiques de la drogue sont accrus quand les injections sont faites à courts intervalles.

b) Sur le Rat et la Souris.

Lourie et Yorke [32] fixent à 1 milligramme par 20 grammes de Souris la dose toxique intra-péritonéale de 4.4' diamidinodiphénoxypentane. Wien (l. c.) donne les chiffres de 0,56 mg. par voie intraveineuse et 1,28 mg. par voie sous-cutanée. Launoy et Lagodsky [33 à 40] indiquent 0,75 mg. par 20 grammes de Souris pour la voie intraveineuse. Les morts, dans ce cas, arrivent brutalement, en quelques secondes après l'injection.

Le Rat albinos est utilisé pour la fixation de la dose toxique par voie sous-cutanée. Launoy et Lagodsky (l. c.) déterminent les doses exceptionnellement léthale à 0,02 g. pour 100 g. de Rat, exceptionnellement tolérée à 0,04 g. et habituellement léthale à 0,03 g.

c) Sur le Lapin.

Lourie et Yorke (l. c.) utilisant le 4.4' diamidinodiphénoxypentane, par voie intra-veineuse, fixent le maximum toléré à 0,02 g./kg. tandis que Launoy et Lagodsky (l. c.) s'arrêtent au chiffre de 0,010 g., à la condition même de pousser l'injection lentement. Par voie intramusculaire, ces deux derniers auteurs ont pu aller jusqu'à 0,06 g. par kilog. Wien (l. c.) indique comme dose léthale/50 :

0,028 g./kg. voie intraveineuse,
0,064 g./kg. voie sous-cutanée.

Pour notre part, la voie sous-cutanée nous a permis d'utiliser des doses allant de 0,005 g. à 0,020/kg. sans autre symptôme qu'une phase de dépression intense, précédée par une courte phase d'excitation avec réflexe de grattage du museau, battement des oreilles et hochements de tête. Après une demi-heure environ, les animaux défèquent des crottes moulées, puis diarrhéiques et urinent. Après une période de dépression et d'abattement (les Lapins prennent une position de décubitus postérieur), les animaux se rétablissent et en une à deux heures paraissent normaux.

Par contre, les doses répétées par voie sous-cutanée, de 0,02 g./kg., trois fois de suite à quarante-huit heures d'intervalle sont toxiques mais lentement. Trois Lapins mâles n°s 25, 26 et 27 (expérience n° 30, 2 juillet 1946) respectivement de 2.370, 2.310 et 2.430 grammes sont morts trente-sept, cinquante-huit et soixante jours après la troisième injection. Tous trois avaient maigri (30 p. 100 pour deux et 10 p. 100 pour l'autre) mais surtout portaient de très grosses escarres avec fonte tissulaire et perte de substance aux points d'injection. Ces escarres profondes apparaissaient une di-

zaine de jours seulement avant la mort et s'accentuaient rapidement. Les autopsies de deux d'entre eux ont révélé la présence d'albumine urinaire (2 g. p. 1000, n° 26 et 3,50 g. p. 1000, n° 27). Les organes génitaux, intestins, foie, rate, reins et estomac semblaient morphologiquement normaux. Trois autres Lapins mâles, dans la même expérience, ne reçurent que deux fois 0,020 g./kg. à quarante-huit heures d'intervalle (n°s 21, 1.910 g. ; 22 : 2.360 g. ; 23, 2550 g.). Tous trois résistèrent et en dehors du choc initial, ne montrèrent aucune réaction de toxicité.

Conclusion. — La voie sous-cutanée permet l'inoculation, sans dommage apparent, de 0,040 g./kg. en deux doses égales réparties à quarante-huit heures d'intervalle. Par contre, la dose totale de 0,060 g./kg. en trois fractions égales est toxique (trois morts sur trois) et tue tardivement avec des lésions cutanées profondes.

C) Etude sur la toxicité des dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

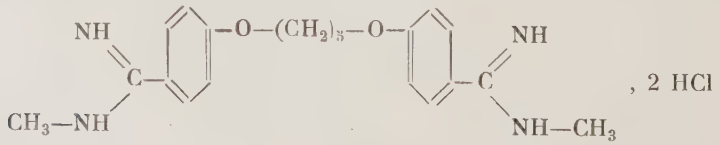
Parmi les substances du même groupe des diamidines, nous avons étudié trois dérivés substitués sur les fonctions amine et imine.

Ce sont les dichlorhydrate de 4.4' diméthyldiamidinodiphénoxypentane, dichlorhydrate de 4.4' diéthyldiamidinodiphénoxypentane, dichlorhydrate de 4.4' dicyclohexyldiamidinodiphénoxypentane.

Nous avons limité notre travail sur ces dérivés à des expérimentations sur le Rat seulement et sur un seul parasite : *T. equiperdum*.

1° Dérivé diméthylé.

Ce dérivé est établi par substitution sur les fonctions amines d'un atome d'hydrogène par le radical —CH_3. La formule est $C_{21}H_{28}O_2N_4$ 2 HCl, soit :



Son poids moléculaire est de 441 et celui de la base 368.

Il se présente sous l'aspect d'une poudre blanche assez finement cristallisée. La solution limpide s'obtient par chauffage au bain-marie, vers 40° quelques minutes.

Toxicité sur le Rat blanc.

Observation. — Afin de comparer plus justement la toxicité de ce corps avec la diamidine non substituée, nous utilisons des solutions équimoléculaires et nous exprimons les doses en chlorhydrate de 4.4' diamidinodiphénoxypentane. Le rapport des poids moléculaires des deux chlorhydrates est $\frac{441}{413}$. Le coefficient correctif à employer pour nos pesées est donc de 1,067.

Par exemple, quand nous disons : nous injectons 0,001 g. en diamidine non substituée, cela revient à injecter : 0,001 × 1,067 soit : 0,001067 g. de dérivé diméthylé.

Expérience n° 33, 11 juillet 1946.

Nous utilisons huit Rats mâles n°ˢ 152 à 159, pesant de 80 à 110 grammes et nous leur injectons une solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée, par voie sous-cutanée dorso-latérale, aux doses suivantes, *exprimées en diamidine non substituée :*

N°ˢ 152 : 0,0025 g. p. 100	156 : 0,015 g. p. 100
153 : 0,0050 g. p. 100	157 : 0,020 g. p. 100
154 : 0,0075 g. p. 100	158 : 0,030 g. p. 100
155 : 0,0100 g. p. 100	159 : 0,040 g. p. 100

En quelques minutes, tous les animaux présentent du prurit intense.

En cinq minutes, le Rat n° 156 (0,015 g. p. 100) meurt. A l'autopsie immédiate, le cœur est arrêté en diastole ; une minute après, quelques extrasystoles contractent les ventricules puis les oreillettes battent irrégulièrement ; en trois minutes, le cœur bat d'un rythme régulier mais accéléré (deux cent vingt-cinq battements par minute), puis il s'arrête subitement.

Les autres animaux ne réagissent pas sensiblement. Mais dix-sept heures après, nous retrouvons morts les Rats 157, 158 et 159 (0,020 g., 0,030 g., 0,040 g. p. 100).

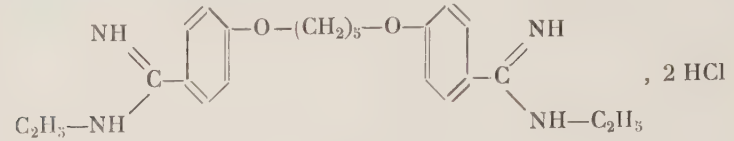
Le 13 (quarante heures après), le Rat n° 155 (0,010 g. p. 100) meurt à son tour. Les trois survivants résistent à l'injection, mais les Rats n°ˢ 153 et 154 font une escarre au point d'injection une dizaine de jours après, avec perte de substance, puis réparation tissulaire complète.

Conclusion. — A partir de 0,010 g. p. 100 en diamidine non substituée, le dérivé diméthylé tue le Rat injecté par voie sous-cutanée. Aux doses inférieures, il peut se former une escarre au point d'injection qui cède progressivement devant une active réparation tissulaire.

Rappelons que c'est à 0,03 g. p. 100 qu'est située la dose léthale de la diamidine de référence. La substitution méthylée sur la fonction amine augmente donc sensiblement la toxicité.

2° Dérivé diéthylé.

Ce dérivé est synthétisé par substitution sur les fonctions amines d'un atome d'hydrogène par un reste — C_2H_5. La formule devient $C_{23}H_{32}O_2N_4$, 2 HCl, soit :



Son poids moléculaire est de 469 et celui de la base = 396.

Le produit se présente sous l'aspect d'une poudre blanche, finement cristallisée, soluble dans l'eau tiède, au bain-marie vers 50°.

Toxicité sur le Rat blanc.

Pour obtenir la solution équimoléculaire à la diamidine de référence non substituée, nous utilisons le coefficient $\frac{469}{413} = 1{,}135$. Soit pour 0,001 g. p. 100, nous injectons 0,001135 g.

Expérience n° 35, 24 juillet 1946.

Sept Rats n°s 163 à 169, de 80 à 100 grammes reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution à 1/200 dans l'eau distillée, aux doses suivantes, exprimées en *diamidine non substituée.*

N°s 163 : 0,0025 g. p. 100	167 : 0,015 g. p. 100
164 : 0,0050 g. p. 100	168 : 0,020 g. p. 100
165 : 0,0075 g. p. 100	169 : 0,030 g. p. 100
166 : 0,010 g. p. 100	

Après trois minutes, le Rat n° 168 (0,020 g. p. 100) est sujet à une violente crise d'excitation, fait des sauts désordonnés et meurt en dix minutes.

Les autres Rats supportent l'injection sans troubles apparents.

Le lendemain, nous retrouvons morts les Rats n°s 167 et 169 (0,015 g. p. 100 et 0,030 g. p. 100); quarante-huit heures après l'injection, le Rat n° 166 meurt à son tour (0,010 g. p. 100) sans perte de poids. Les trois autres Rats subsistent sans lésions apparentes.

Expérience n° 51, 9 octobre 1946.

Neuf Rats reçoivent, par voie sous-cutanée, une injection de ce dérivé diéthylé en solution à 1/200 dans l'eau distillée aux doses suivantes exprimées en *diamidine non substituée.*

N°s 270, 273	0,0025 g. p. 100
271, 274, 277, 280	0,0050 g. p. 100
275, 278, 281	0,0075 g. p. 100

Le poids de ces animaux varie de 100 à 115 grammes.

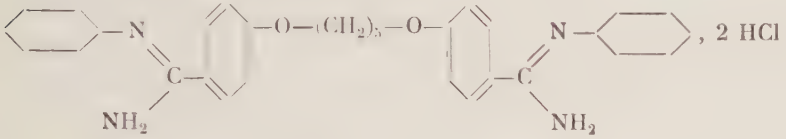
Le lendemain matin sont morts les Rats n°s 275 et 281, injectés avec la dose de 0,0075 p. 100. Les autres survivent sans réaction.

Conclusions sur la toxicité.

Les doses égales ou inférieures à 0,005 g. p. 100 sont bien supportées. A 0,0075 g. p. 100, nous trouvons deux morts sur quatre et à 0,010 g. p. 100 et au delà, nous n'avons pas de survivants. La mort survient au maximum dans les quarante-huit heures.

3° Dérivé dicyclohexylé.

Obtenu par substitution sur la fonction imine d'un atome d'hydrogène par un reste cyclohexyl — C_6H_{11}, ce dérivé a pour formule $C_{31}H_{44}O_2N_4$, 2 HCl, soit



Le poids moléculaire est de 577 et celui de la base 504.

Il se présente sous l'aspect d'une poudre blanche, finement cristallisée, soluble dans l'eau tiède, au bain-marie vers 40°, après quelques minutes.

Toxicité sur le Rat.

Le coefficient de correction pour obtenir une solution équimoléculaire à la Diamidine non substituée est $\frac{577}{413} = 1{,}397$.

Expérience n° 28, 28 juin 1946.

Dix Rats n°s 106 à 110 et 112 à 116, pesant de 90 à 115 grammes reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1/200 dans l'eau distillée aux doses suivantes, exprimées en *diamidine non substituée :*

N°s 106, 112	0,0025 g. p. 100
107, 113	0,0050 g. p. 100
108, 114	0,0075 g. p. 100
109, 115	0,0100 g. p. 100
110, 116	0,0150 g. p. 100

L'injection provoque en quelques minutes un fort prurit au point d'inoculation. Le lendemain, le n° 108 (0,0075 g. p. 100) est retrouvé mort avec des matières intestinales diarrhéiformes. Puis plusieurs jours après, se manifestent chez certains une escarre au lieu d'injection dès la dose de 0,0075 g. p. 100 (N° 114). Vers le vingtième jour de larges lambeaux d'épiderme poilu et de derme se détachent (N°s 109, 115, 116). Enfin, chez le Rat n° 110 (0,0015 g. p. 100) l'escarre suppure et avec une atrophie de la patte, l'ani-

mal meurt le 30 août (trente-deuxième jour). Les autres animaux font une régénération tissulaire et guérissent.

Expérience n° 29, 3 juillet 1946.

Dix Rats reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée aux doses suivantes, toujours exprimées en *diamidine non substituée :*

N°s 118	0,010 g. p. 100
119, 124	0,015 g. p. 100
120, 125	0,020 g. p. 100
121, 126	0,030 g. p. 100
122, 127	0,035 g. p. 100
128	0,055 g. p. 100

En quelques minutes, le prurit déjà observé se manifeste chez tous les animaux. Le Rat n° 120 (0,020 g.) est choqué en dix minutes, puis semble se remettre. Le lendemain, sont morts les Rats n°s 124 (0,015 g. p. 100), 120 (0,020 g. p. 100) et ceux qui ont reçu les doses supérieures.

Les trois survivants, 118, 119 et 125 ne présentent ultérieurement aucun symptôme.

Conclusion. — 0,0075 g. p. 100 tue un Rat sur deux. A 0,015 g. p. 100, nous notons deux morts sur quatre et une sur deux à 0,020 g. p. 100. Les doses supérieures sont mortelles pour tous les animaux. La dose léthale 100 p. 100 est donc à 0,030 g. p. 100 mais sans perdre de vue que nous avons des morts à des doses notablement plus basses.

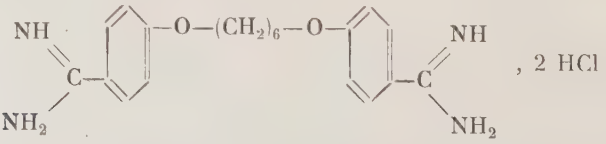
D) Etude sur la toxicité du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane.

Ce dérivé est utilisé sous forme de dichlorhydrate.

La chaîne en C_6 a déjà servi à synthétiser une diamidine, le 4,4' diamidinodiphénylhexane que Fulton (1944) [41] estime assez mauvais trypanocide et agent incapable d'influer la maladie du Hamster infecté de *Leishmania donovani.*

Ici, la chaîne aliphatique est, comme pour la diamidine dérivée du pentane, liée au cycle aromatique par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène.

La formule est $C_{20}H_{26}O_2N_4$, 2 HCl, soit :



Le poids moléculaire est de 427 et celui de la base 354. Cette diamidine se présente sous l'aspct d'une poudre blanche, finement cristallisée, soluble dans l'eau tiède en une solution limpide.

Nous l'appelons dans la suite Hexamidine.

a) Toxicité pour le Cobaye.

Expérience n° 34, 16 juillet 1946.

Quatre Cobayes mâles n^{os} 55 à 58, de 410 à 475 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 1.000, dans du sérum physiologique glucosé

ClNa	9 g.
H_2O	1000 cm^3
Glucose	1 g.

aux doses suivantes :

N^{os} 55 — 450 g.....	0,50	mg. p. 100
56 — 475 g.....	1	mg. p. 100
57 — 450 g.....	1,50	mg. p. 100
58 — 410 g.....	2	mg. p. 100

En vingt-deux heures, le Cobaye n° 58 (2 mg. p. 100) succombe après de fortes diarrhées. A l'autopsie, l'intestin grêle et le gros intestin sont dilatés par des matières liquides ; le chyme gastrique est semi-liquide.

Les trois autres Cobayes survivent aux injections et grossissent.

Expérience n° 39 — 2 Août 1946.

Les Cobayes mâles n^{os} 60 à 65 reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans du sérum isotonique, aux doses suivantes :

N^{os} 60 — 380 g.....	1	mg. p. 100
61 — 380 g.....	2	mg. p. 100
62 — 475 g.....	2	mg. p. 100
64 — 320 g.....	2,5	mg. p. 100
63 — 370 g.....	3	mg. p. 100
65 — 330 g.....	3	mg. p. 100

Le 5, soit trois jours après l'injection, les cobayes 64 (2,50 mg.) et 65 (3 mg.) sont retrouvés morts, en décomposition. Les autres survivent.

Conclusion. — L'Hexamidine, par voie sous-cutanée, s'avère toxique pour le Cobaye dès la dose de 2 mg. p. 100 (une mort sur trois), alors qu'à 3 mg., il y a une mort sur deux.

Les symptômes d'intoxication semblent prédominants sur le tube digestif, se manifestant par de violentes diarrhées. Les autopsies révèlent la présence d'abondantes matières liquides.

b) Toxicité pour le Rat.

Expérience n° 21 — 31 mai 1946.

Neuf Rats blancs reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans l'eau distillée stérile ; deux autres Rats N^{os} 48 (110 g.) et 53 (120 g.) restent comme témoins de survie. Les autres sont injectés suivant ces doses, proportionnellement à leurs poids :

N°s 43	— 105 g.....	15 mg. p. 100
44	— 115 g.....	20 mg. p. 100
45	— 95 g.....	20 mg. p. 100
46	— 100 g.....	30 mg. p. 100
47	— 100 g.....	30 mg. p. 100
49	— 95 g.....	40 mg. p. 100
50	— 100 g.....	40 mg. p. 100
51	— 100 g.....	50 mg. p. 100
52	— 100 g.....	50 mg. p. 100

Après des tuméfactions aux points d'injection, il se forme des escarres et des morts se produisent rapidement.

Pour les Rats 51 et 52 (50 mg. p. 100) la mort survient en 3 et 6 jours.

Pour les Rats 49 et 50 (40 mg. p. 100) la mort survient en 3 jours.

Pour les Rats 46 et 47 (30 mg. p. 100) la mort survient en 10 et 3 jours.

Pour les Rats 44 et 45 (20 mg. p. 100) la mort survient en 27 et 10 jours.

Seul survit le Rat n° 43 (15 mg.).

Expérience n° 19 — 29 mai 1946.

Huit Rats albinos, en dehors de deux témoins de survie (N° 37, 110 g. et n° 42, 120 g.) reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans l'eau distillée stérile, aux doses suivantes :

Rats N°s	33.....	100 g.	5 mg. p. 100
	34.....	105 g.	
	35.....	125 g.	7,50 mg. p. 100
	36.....	105 g.	
	38.....	115 g.	10 mg. p. 100
	39.....	115 g.	
	40.....	115 g.	15 mg. p. 100
	41.....	105 g.	

Tous les animaux survivent à l'exception du Rat n° 40 (15 mg. p. 100) qui meurt le 26 juin, soit vingt-huit jours après l'injection. Toutefois, les doses supérieures ou égales à 7,50 mg. p. 100 ont provoqué chez tous les Rats des tuméfactions, puis de la nécrose avec chute de lambeaux de chair dans les zones des injections sous-cutanées. La guérison est lente et demande plusieurs semaines.

Expérience n° 17 — 21 mai 1946.

Les Rats n°s 23 à 30, de 90 à 115 g., reçoivent une solution à 1 p. 100 d'Hexamidine aux doses de 2 mg. p. 100 (N°s 23 et 24), 3 mg. p. 100 (N°s 25 et 26), 4 mg. p. 100 (27 et 28), 5 mg. (N°s 29 et 30). On n'observe aucune mort consécutive à ces injections. Toutefois, des escarres sèches se forment sur quelques Rats (1 à 5 mg., 1 à 4 mg., 1 à 3 mg.), qui cicatrisent après perte de lambeaux de chair.

Expérience n° 44 — 29 août 1946.

Dix-sept Rats, n°s 225 à 241 reçoivent par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1/200 dans l'eau distillée stérile, aux doses suivantes :

N°s 225 (100 g.) 228 (90 g.) 232 (140 g.) 236 (155 g.)	3 mg. p. 100	227 (90 g.) 230 (95 g.) 234 (130 g.) 238 (130 g.) 240 (130 g.)	5 mg. p. 100
226 (110 g.) 229 (110 g.) 233 (190 g.) 237 (200 g.)	4 mg. p. 100	231 (175 g.) 235 (130 g.) 239 (150 g.) 241 (140 g.)	10 mg. p. 100

Dix-huit jours après l'injection, on observe deux morts touchant les Rats n°s 239 et 241, ayant reçu 10 mg. p. 100 ; les deux cadavres portent chacun une grosse escarre au point d'injection.

Conclusions. — Par voie sous-cutanée, l'Hexamidine est toxique chez le Rat albinos à partir de 10 mg. p. 100 (deux morts sur six). A 15 mg. p. 100 on observe encore une mort sur trois. A partir de 20 mg. p. 100, tous les Rats meurent. Dès 3 mg. p. 100, il se forme des escarres avec perte de substance, puis cicatrisation lente, mais totale.

c) Toxicité pour le Lapin.

Expérience n° 45 — 27 août 1946.

Quatre Lapins domestiques mâles, numérotés 29 (2180 g) ; 30 (1900 g.) ; 31 (2230 g.) et 32 (1980 g.), reçoivent par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans du sérum physiologique, aux doses respectives de 20 mg., 30, 40 et 50 par kilog.

Ces injections provoquent en trois minutes du prurit nasal ; les animaux se frottent le museau avec leurs pattes antérieures et ils battent des oreilles ; ils sont excités, courent en tous sens. Quinze minutes après les injections, les quatre Lapins boivent avec avidité l'eau qui leur est présentée et ils commencent à déféquer des crottes moulées. En 20 minutes, l'animal n° 31 (40 mg./kg.) se couche et manifeste un choc très profond ; cinq minutes plus tard, le Lapin n° 32 (50 mg.) subit la même dépression et enfin, en trente-cinq minutes, le Lapin n° 29 (20 mg.). Toutefois, ces animaux se remettent rapidement et en une heure, leur tenue est normale. On n'observe ni diurèse, ni diarrhée.

Le 30 août, soit en trois jours, meurt le Lapin n° 32 (50 mg./kg.) Il pèse 1750 g., marquant un amaigrissement de 230 g. Nous n'observons pas d'escarres.

A l'autopsie, l'urine (25 à 30 cm^3) prélevée dans la vessie, présente d'assez nombreuses hématies et globules blancs, ainsi que de l'albumine, 0,60 g. p. 1000. Il n'y a pas de liquide d'ascite. L'estomac est rempli de substances alimentaires pâteuses et les matières intestinales ont une consistance normale.

Les autres Lapins subissent, sans autres troubles apparents que le choc initial, les injections d'Hexamidine et tous trois survivent.

Conclusions. — Le Lapin supporte, par voie sous-cutanée, 40 mg. par kg. d'Hexamidine, mais la dose de 50 mg./kg. est toxique ; la mort survient en trois jours.

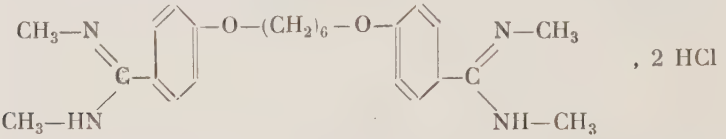
E) Etude sur la toxicité des dérivés substitués du 4.4'diamidinodiphénoxyhexane.

Nous avons expérimenté sur le Rat deux dérivés substitués de cette diamidine, ce sont le : dichlorhydrate de 4.4' tétraméthyldiamidinodiphénoxyhexane et la base 4.4' tétraéthyldiamidinodiphénoxyhexane.

1° Dérivé tétraméthylé.

Ce corps est établi par substitution sur les fonctions amine et imine à la fois, d'atomes d'hydrogène par le reste méthyl—CH_3.

La formule est $C_{34}H_{34}O_2N_4$, 2 HCl soit :



Le poids moléculaire est de 483 et celui de la base 410.

Ce dichlorhydrate se présente sous forme d'une poudre blanche finement cristallisée, soluble dans l'eau tiède au bain-marie, vers 40°. La solution est limpide.

Afin de comparer ce dérivé substitué à la diamidine de référence non substituée, nous utilisons des solutions équimoléculaires et nous exprimons les doses en Hexamidine. Le rapport est ici de $\frac{483}{427}$ soit un coefficient de correction de 1,131. Si nous voulons comparer l'activité de ce dérivé à 0,001 g. d'Hexamidine par exemple, il faut en injecter 0,001131 g.

Toxicité pour le Rat.

Expérience n° 25 — 19 juin 1946.

Ce jour, nous injectons à quatre Rats, par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée de ce dérivé tétraméthylé aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine :*

N° 73 — 0,0025 g. p. 100	Poids des Rats :	95 g.
74 — 0,0050 g. p. 100	»	: 100 g.
75 — 0,0075 g. p. 100	»	: 110 g.
76 — 0,0100 g. p. 100	»	: 105 g.

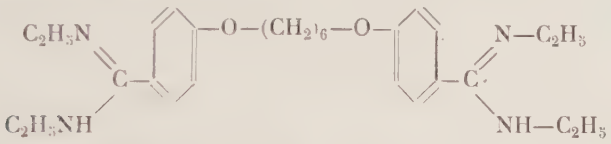
Le lendemain matin, les deux Rats n°s 75 et 76 sont retrouvés morts. Les autres survivent, mais le Rat n° 74 réagit par une grosse escarre au point d'injection vers le 11 juillet et un léger amaigrissement (80 g. le 29 au lieu de 100 le 19). Puis la réparation tissulaire joue et efface toute trace.

Conclusion. — Dès 0,0075 g. p. 100, le dérivé tétraméthylé est toxique pour le Rat. Des doses inférieures peuvent provoquer des lésions cutanées réparables.

2° Dérivé tétraéthylé.

Ce corps est établi par substitution sur les fonctions amine et imine d'atomes d'hydrogène par le reste éthyl—C_2H_5.

La formule est $C_{28}H_{42}O_2N_4$, soit :



Le poids moléculaire est de 466.

Ce corps se présente sous forme d'une poudre blanche. Nous l'utilisons en solution chlorhydrique à 1/200 suivant la formule suivante :

Tétraéthylhexamidine	0,125	g.
HCl N/10	5,9	cm³
H_2O ..... q. s. p.	25	cm³

La solution est obtenue en tiédissant à 50° environ. La quantité théorique d'HCl N/10 qu'il faudrait ici serait de 5,20 cm³ pour obtenir le dichlorhydrate.

Le coefficient de correction à utiliser pour comparer à l'Hexamidine sous les rapports habituels de chlorhydrate est de $\frac{539}{427} = 1{,}262$.

Toxicité pour le Rat.

Expérience 36 — 24 juillet 1946.

Six Rats reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1/200 du dérivé tétraéthylé aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine.*

N°s 173.....	0,0025	g. p. 100
174.....	0,0050	g. p. 100
175.....	0,0075	g. p. 100
176.....	0,010	g. p. 100
177.....	0,015	g. p. 100
178.....	0,020	g. p. 100

Le poids des Rats varie de 75 à 105 grammes.

En une heure, tous succombent après attaque de paralysie et extension des pattes postérieures.

Expérience n° 41 — 20 août 1946.

Six Rats reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 1000 du dérivé tétraéthylé aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine.*

N°s 192	0,00050 g. p. 100		N°s 195	0,0015 g. p. 100	
193	0,00075 g. p. 100		196	0,0020 g. p. 100	
194	0,001 g. p. 100		197	0,0025 g. p. 100	

En moins de seize heures meurent les Rats 194, 195, 196 et 197.

Les deux survivants supportent leur injection sans lésion apparente ultérieure.

Conclusion. — Il faut descendre à 0,00075 g. p. 100 en Hexamidine pour obtenir la survie de Rats injectés par voie sous-cutanée par la tétraéthylhexamidine.

F) **Tableau récapitulatif de la toxicité des composés étudiés, pour certains animaux de laboratoire.**

Drogue	Rat g. p. 100 s. c.			Cobaye g. p. 100 s. c.			Souris g./20 g.			Lapin g./kg.		
	D. M. T.	D. L. 50	D. L. 100	D. M. T.	D. L. 50	D. L. 100	S. C.	D. L. 100 I. P.	D. L. 100 I. V.	D. M. T.	D. L. 50	D. L. 100
Diamidinodiphénoxypentane.....	0,02	0,03	0,04	0,001	0,002 à 0,004	0,005	0,00128 (1)	0,001 (3)	0,00056 (1) 0,00075 (2)	0,04 (4) 0,06 (2) 0,02 (3) 0,01 (2)	0,064 (1) 0,028 (1)	0,06 S.C. (5) I.M. I.V.
Diméthyl D.A.D.P. ..	0,0075	—	0,01									
Diéthyl D.A.D.P....	0,005	0,0075	0,01									
Dicyclohexyl D.A.D.P	0,005	0,0075	0,03									
Diamidinodiphenoxyhexane	0,0075	0,015	0,02	0,0015	0,003					0,04		0,05 S.C.
Tétraméthyl D.A.D.H.	0,005	—	0,0075									
Tétraéthyl D.A.D.H. .	0 ,00 75	—	0,001									

D.M.T. : Dose maxima tolérée.
D.L. 50 : Dose léthale 50 p. 100.
D.L. 100 : Dose léthale 100 p. 100.
D.A.D.P. : diamidinodiphénoxypentane.
D.A.D.H. : diamidinodiphénoxyhexane.
S.C. : sous-cutané. I.P. : intra péritonéal.
I.M. : intra musculaire. I.V. : intra veineux.

(1) Wien.
(2) Launoy et Lagodsky.
(3) Lourie et Yorke.
(4) Doses fractionnées en 2 fois à 48 heures d'intervalle chacune.
(5) Doses fractionnées en 3 fois à 48 heures d'intervalle chacune.

SECONDE PARTIE.

Etude
des thérapeutiques curative et préventive des trypanosomoses expérimentales par diverses diamidines aromatiques.

SECONDE PARTIE

CHAPITRE III.

I.

ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE EXPÉRIMENTALE A *TRYPANOSOMA EQUIPERDUM.*

A) Sur le Cobaye.

Le Cobaye est un animal sensible à *T. equiperdum.* Primitivement, Rouget (1894 à 1896) [43 à 44] n'avait pas réussi à infecter le Cobaye, mais ses expériences postérieures furent positives (1904). Pour Uhlenhuth, Hubener et Woithe [45 à 46] l'animal s'infecte mais résiste très bien, malgré de fortes poussées de parasites dans le sang. Zwick et Fischer [47] fixent entre deux et trois mois la durée de la maladie ; le sang ne présente de parasites qu'en petit nombre et de façon intermittente ; l'inoculation intrapéritonéale provoque une incubation de sept à dix jours. Poindexter [48] observe de notables survies chez des Cobayes gravides bien que les fœtus soient expulsés morts.

Nos expériences dont détail ci-joint nous ont montré :

1° Que la période d'incubation varie selon la masse infectante, de trois jours à vingt-deux jours.

2° Que l'état d'infection est entrecoupé de phases négatives sanguines.

3° Que la mort survient toujours et cela dans les limites comprises entre trente trois et cent quinze jours.

Nos expériences ont toutes été poursuivies sur des Cobayes mâles.

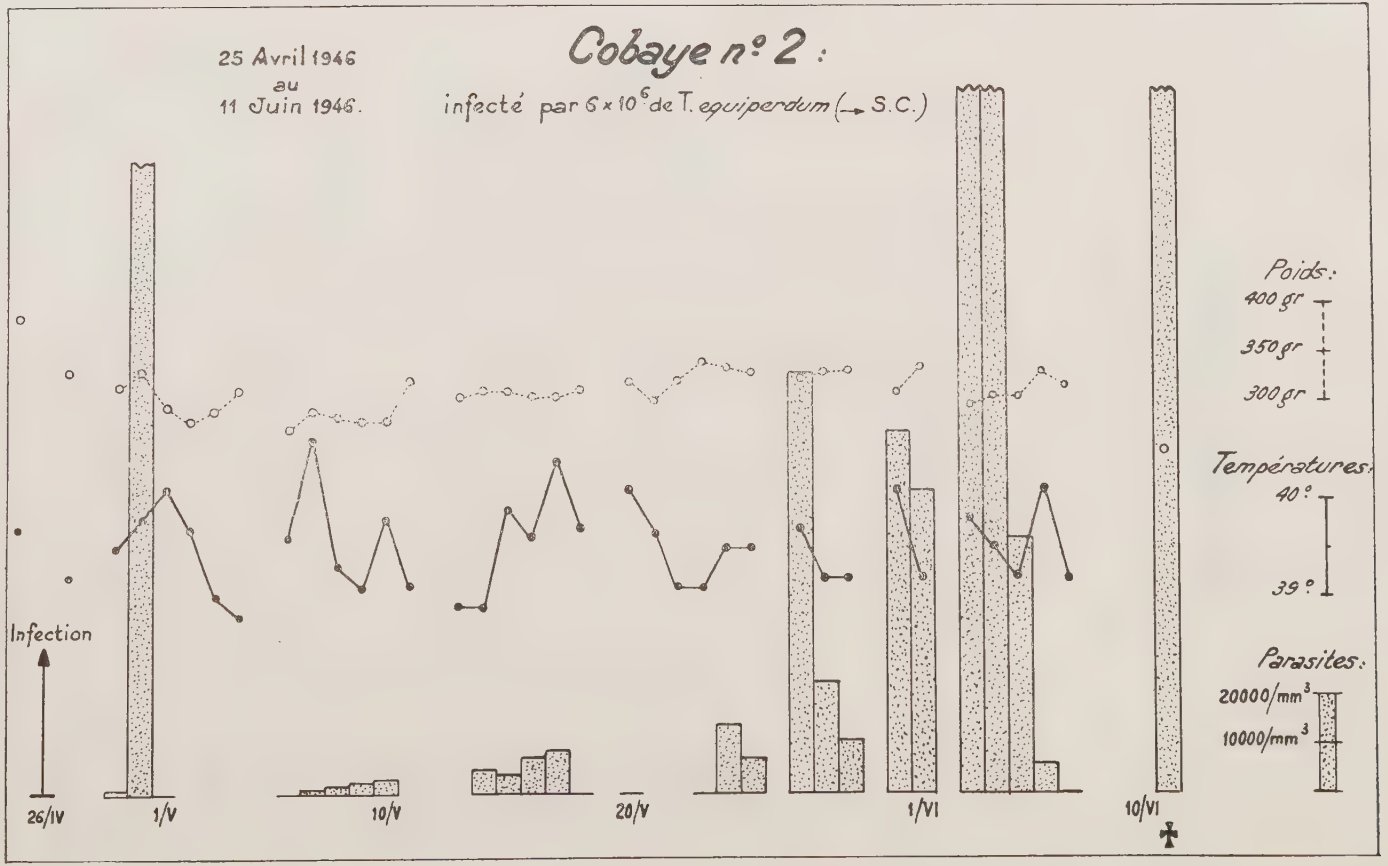

Cobaye n° 2 :
25 Avril 1946
au
11 Juin 1946.
infecté par 6 × 10⁶ de T. equiperdum (→ S.C.)
Poids :
400 gr
350 gr
300 gr
Températures :
40°
39°
Parasites :
20000/mm³
10000/mm³
Infection
26/IV
1/V
10/V
20/V
1/VI
10/VI

FIG. 4.

PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX.

1° Infections massives (six millions).

Expérience n° 1. — 25 avril 1946.

Les Cobayes mâles n° 2 (385 grammes), 9 (270 grammes) ; 10 (220 grammes) reçoivent le 26 avril 1946 une suspension de six millions de *T. equiperdum* en 0,50 cm³ d'eau physiologique à 9,2 p. 1000 glucosée à 1 p. 1000.

Le sang obtenu par ponction cardiaque d'une Souris en pleine trypanémie est dilué dans de l'eau salée, glucosée, stérile. Les parasites sont numérés à la cellule de Thoma et l'on ajuste la dilution de façon à injecter un volume voisin de 0,5 cm³. Après l'inoculation du dernier Cobaye de la série en expérience, la mobilité des parasites est vérifiée sur une goutte de la suspension.

Cobaye n° 2. — 385 grammes. Fig. 4.

L'examen du sang périphérique est positif dès le 29 ; le 30, (4e jour), la trypanémie atteint 200.000/mm³ mais retombe dès le lendemain à moins de 1000, puis les parasites disparaissent pendant quatre jours. Une trypanémie légère réapparaît du 6 au 10 mai, allant de 1000 à 3000/mm³. Une lyse de trois jours précède une nouvelle rechute plus forte de 5.000 à 9.000 pendant cinq jours. Une nouvelle disparition se manifeste pendant les quatre jours suivants. La troisième rechute montre une trypanémie accentuée à 86.000 puis à 200.000 le 3 juin. Une lyse nouvelle fait tomber la concentration parasitaire sanguine à 180.000 le 4, 52.000 le 5, 6.000 le 6, moins de 1.000 le 7. Puis une dernière rechute survient et entraîne la mort en pleine septicémie. L'animal est retrouvé mort le 11 juin, *quarante-six jours après l'injection infectante.*

En résumé, après une incubation de trois jours, on observe une première poussée trypanémique élevée et courte ; puis des périodes de blanchiment de trois à quatre jours alternent avec des rechutes de cinq jours au début, puis plus longues, dont l'acmé s'élève régulièrement à chaque rechute, jusqu'à la mort en pleine infection.

Le poids de l'animal ne varie pas sensiblement pendant toute la maladie, sauf à la période agonique où un amaigrissement brutal détermine une chute du poids de 330 grammes le 6 juin à 250 grammes le 11 juin.

La température est par ailleurs assez désordonnée. Au moment des acmés de la première trypanémie et des deux premières rechutes, la température s'élève en clocher, respectivement à 40°1, 40°6 et 40°4 avec des minima intercalaires de

38°8, 38°9 et 39°7. Pendant la seconde moitié de la maladie, la courbe thermique est en dents de scie.

L'étude hématologique quotidienne conduit aux remarques suivantes :

a) *Les éléments lymphocytaires à corps de Kürloff,* exceptionnellement nombreux chez ce Cobaye — 16,5 p. 100 des globules blancs le 25 avril avant l'infection — diminuent dès celle-ci et le 29 leur concentration tombe à 5 p. 100 et reste aux environs de ce taux jusqu'au 15 mai. Le 22 mai, leur pourcentage est à 3,3 ; il est de 1,5 le 25, 0,9 le 27 et s'annule le 28 ; il reste à 0 jusqu'à la mort survenue le 11 juin. Ces résultats confirment ceux présentés par H. Lagodsky [49] dans son étude.

b) Les *monocytes* subissent par contre un accroissement relatif dans la formule leucocytaire et les augmentations correspondent en général aux maxima de la trypanémie des rechutes, soit 4,6 p. 100 avant l'infection le 25 avril ; 10 p. 100 pour 200.000 parasites par mm³ le 30 avril ; 20,5 p. 100 pour 3.000 le 9 mai ; 18,3 p. 100 pour 9.000 le 17 ; 17 p. 100 pour 110.000 le 29 ; 3,6 p. 100 pour 180.000 le 4 juin.

c) Les *polynucléaires neutrophiles* marquent une augmentation immédiatement après l'infection et subissent une très forte diminution dès le début de la première crise lytique ; en effet de 36,6 p. 100 avant l'infection et de 55 à 54 p. 100 à la première apparition des parasites, leur concentration diminue subitement au moment de la lyse à 20 p. 100 le 1er mai, 7,8 p. 100 le 2, 3,3 p. 100 le 3 pour remonter rapidement à 20 p. 100 le 4 et 56 p. 100 le 6 et osciller jusqu'à la mort autour de son pourcentage initial.

d) Les *lymphocytes* suivent une courbe inverse, offrant une concentration relative accrue au moment de la crise.

e) Les *éosinophiles* et *basophiles* polynucléaires ne marquent pas de perturbation sensible.

A l'autopsie, l'urine prélevée dans la vessie se révèle albumineuse (1 gramme p. 1.000) et la rate est hypertrophiée, pesant 1,37 g.

Cobaye n° 9. — 270 grammes.

Infecté comme le précédent, ce Cobaye présente trois jours après, quelques rares parasites dans le sang et le lendemain, la trypanémie atteint 112.000/mm³; elle est à moins de 1.000 vingt-quatre heures après et s'annule enfin pendant quatre jours. Une première

rechute légère de 2.000/mm³ dure quatre jours. Une période de blanchiment s'étend pendant quatre autres jours ; les rechutes se manifestent de plus en plus fortes, la trypanémie atteignant 24.000 le 15 mai, 26.000 le 21, 78.000 le 29, 220.000 le 4 juin, 328.000 le 5, 410.000 le 6. Une dernière période de lyse se déclenche : 296.000 le 7, moins de 1.000 le 11 et l'animal meurt le 12 juin sans parasites visibles dans le sang prélevé au cœur à l'autopsie.

La courbe de la température se caractérise par trois clochers, le premier à 41° au moment de la crise initiale, le second à 40°3 à la première rechute et le troisième à 39°9 à la deuxième rechute. Entre ces pointes extrêmes on trouve des minima de 38°8, 38°4 et 39°1. La courbe de la température dans la seconde partie de la maladie, est comprise entre 39° et 39°9.

Pendant la maladie, la croissance continue, mais lentement. En effet, le 1er juin, l'animal pèse 350 grammes soit un gain de 80 grammes en trente-six jours. A la période agonique, on note un amaigrissement brutal ; l'animal pèse 235 grammes le 12 juin à sa mort, *quarante-sept jours après l'infection*. La rate à l'autopsie, pèse 0,72 g. Il y a des traces de liquide d'ascite dans la cavité péritonéale.

Cobaye n° 10. — 220 grammes.

Infecté comme les deux précédents le 26 avril 1946, ce Cobaye présente des parasites dans le sang circulant périphérique dès le troisième jour ; leur densité augmente brutalement : 32.000 le 30 ; 210.000 le 1er mai. Une période de lyse se déclenche : 300/mm³ le 2, examen négatif les 3, 4 et 6 mai. Une rechute de cinq jours atteignant 23.000 parasites par mm³ précède une seconde lyse de trois jours et une nouvelle rechute allant à 80.000 le 17 mai. La densité décroît à nouveau et après un nouveau blanchiment, la trypanémie agonique s'accentue : à 84.000 le 28 mai, 160.000 le 31, 190.000 le 1er juin ; l'animal meurt le 3 en pleine infection. La courbe thermique présente quelques pointes extrêmes, la première dès l'apparition des parasites à 40°4 le 1er mai (200.000/mm³), la seconde à 40° le 17 (80.000), au cours de la seconde rechute soit donc aux acmés de la trypanémie ; dans l'intervalle, la température est basse : 38°7, 38°4.

Le poids s'accroît légèrement durant toute la maladie et l'animal meurt à 260 grammes, *trente-huit jours après l'infection*.

Vers le milieu de la maladie, les bourses s'œdématient mais les testicules, petits chez cette jeune bête, restent mobiles ; ils sont douloureux au toucher.

L'autopsie révèle 2 grammes p. 1.000 d'albumine urinaire. D'autre part, la rate hypertrophiée pèse 1,57 g.

2° Infections sévères (Un million).

Expérience n° 11. — 25 avril 1946.

Cobaye n° 0. — Le 10 mai 1946, ce Cobaye mâle de 460 grammes reçoit, par voie sous-cutanée, une suspension d'un million de *T. equiperdum.*

L'apparition des premiers parasites dans le sang périphérique se manifeste le 23 mai, soit le *treizième jour* de la période d'incubation. La trypanémie reste inférieure à 1.000/mm³ pendant trois jours.Un blanchiment de trois jours, du 26 au 28 mai, précède une rechute dans laquelle la trypanémie s'accroît rapidement à 3.000 le 4 juin, 44.000 le 6, 124.000 le 7 et 696.000 le 11. Le Cobaye meurt le 12 juin.

La température normale dans les premiers jours de l'incubation, atteint le 20 mai 41°1 et, dès le lendemain retombe à 38°9; les premiers parasites sont repérés dans le sang trois jours après ce clocher. Une autre poussée thermique se manifeste au début et à la fin de la rechute, 39°8 le 3 juin (16.000) et 40°3 le 7 (124.000). A l'agonie du Cobaye, pendant la très forte trypanémie (696.000), la température s'effondre ; de 38°5 le 11 juin à 10 heures, elle passe à 31°3 à 16 heures 30 et 29°1 à 17 heures 15. A ce moment, le Cobaye est sujet à de fortes réactions toniques des membres antérieurs. Le lendemain matin, le Cobaye est retrouvé mort, *trente-trois jours après l'infection.* La rate pèse 3,20 g.

Le poids du Cobaye a peu varié durant toute la maladie et l'animal pèse à sa mort 450 grammes.

Cobaye n° 24. — Le 25 mai 1946, un Cobaye mâle de 380 grammes est infecté par voie sous-cutanée par un million de *T. equiperdum.* Après une incubation de six jours, le 31 mai, les parasites apparaissent dans le sang où on les trouve encore le 3 juin. A ce moment se déclenche une crise trypanolytique qui s'étend pendant huit jours. Le 12, une première rechute apparaît avec une trypanémie rapidement croissante : 10.000 parasites par mm³ le 13, 24.000 le 14, 116.000 le 17. Après une nouvelle lyse conduisant progressivement à une trypanémie inférieure à 1.000 par mm³, une deuxième rechute porte l'infection à des taux de 6.000 le 25, 12.000 le 29, 52.000 le 1er juillet, 88.000 le 4. Mais le 5 s'amorce une nouvelle crise lytique et le 6 il y a blanchiment. Jusqu'au 22, on trouve sporadiquement quelques rares parasites. A cette date, une nouvelle rechute du type en clocher se manifeste jusqu'à 54.000 le 25. Une fois encore, l'infection ne tient pas et si quelques parasites apparaissent, à d'autres moments, on n'en trouve pas (9, 16, 19, 20, 21 août) et ce jour-là le Cobaye meurt en hypothermie, dans de violentes crises toniques, *quatre-vingt-huit jours après l'infection.*

La température, durant toute la maladie, est irrégulière, marquée toutefois de clochers concomitants aux poussées trypanémiques dont une à 40°1 coïncide avec la fin de l'incubation bactériologique.

Une diminution sensible de poids s'accentue à partir de la se-

conde moitié de la maladie et l'animal meurt à 275 grammes, à l'état semi-cachectique.

Au cours de cette évolution clinique, plus lente que les précédentes, des lésions externes ont la possibilité de se manifester ; une dépilation d'abord localisée sur l'arrière-train, se généralise sur tout le dos et les flancs ainsi que la tête ; puis la peau nue se recouvre de squames qui tombent facilement, laissant apparaître une parcheminisation cutanée avec fendillement ; les yeux également sont atteints et laissent suinter un écoulement muco-purulent tandis que les paupières à demi obturées sont œdématiées. D'autre part, les organes génitaux réagissent à l'infection ; les bourses sont œdématiées et sclérosées.

A l'autopsie qui ne révèle pas de lésions apparentes à un examen direct, la rate n'est pas hypertrophiée et pèse 0,35 g.

Cobaye n° 25. — Le 5 juin 1946, un Cobaye mâle de 450 grammes est infecté par un million de *Trypanosoma equiperdum*, par voie sous-cutanée. Après une incubation de six jours, les parasites apparaissent et se multiplient rapidement ; de moins de 1.000/mm³ le 11, ils atteignent la densité de 24.000/mm³ le 12 et le 13. Une crise trypanolytique brutale conduit au blanchiment dès le lendemain 14. Mais le 18 une rechute s'amorce dont le taux d'infection reste faible autour de 1.000 avec toutefois une poussée à 16.000 le 26. Une nouvelle crise de lyse se déclenche le 1er juillet et seulement le 9, des parasites réapparaissent dont la densité atteint 48.000 le 10, puis après une stagnation de quelques jours s'accroît subitement à 160.000 le 22 et 200.000 le 25 juillet. Une troisième crise lytique fait tomber la concentration parasitaire à 24.000 le 26 et atteint zéro le 27. Enfin, une dernière rechute se manifeste et après 52.000 le 31, 80.000 le 1er août, 208.000 le 5, ce jour-là, le Cobaye meurt en pleine septicémie.

La température manifeste de nombreux clochers et ceci, à chacune des poussées trypanémiques : 40°6 le 13 juin (24.000/mm³), 40°1 le 20 (1.000), 40°4 le 26 (16.000), 40° le 22 juillet (160.000). A l'agonie, celle-ci s'effondre : 39°3 le 31 juillet, 38°6 le 1er août, 37°8 le 3, 37°6 le 5.

Le poids se maintient durant presque toute la maladie, pour baisser subitement à dater du 23 juillet (435 g.) jusqu'à la mort le 5 août à 285 g. *soixante et un jours après l'infection.*

De la dépilation commence vers le 5 juillet, un mois après l'infection. De nombreuses pellicules recouvrent la peau qui, légèrement vaso-dilatée et constamment rose, se craquelle. La dépilation devient presque totale à la fin de la maladie et, cachectique, l'animal meurt, le dos et les flancs totalement dénudés. A l'autopsie, la rate pèse 1,05 g.

Expérience n° 15. — 9 mai 1946.

Cobaye n° 17. — Un Cobaye mâle de 250 grammes subit une infection sous-cutanée de *1 million* de *T. equiperdum*. L'incubation dure quinze jours et le 24 mai, quelques parasites apparaissent et se multiplient rapidement : 7.500/mm³, le 27 mai, 23.000 le 29 ; une

crise lytique fait baisser la concentration à moins de 1.000 dès le 31. Une recrudescence se manifeste après quatre jours et le 5 juin, la numération indique 22.000/mm³ et 72.000 le 6. Après une seconde crise s'étendant jusqu'au 14, une rechute porte le taux parasitaire à 18.000 le 18, 52.000 le 21 et alors que la concentration tombe à 18.000 le 24, le Cobaye meurt après quarante-six jours de maladie.

La température, de 39°1 au moment de l'infection, monte à 40°6 le 17 et revient à la normale dès le 21 mai. Une nouvelle poussée d'un jour se manifeste le 29 à 39°9 au moment du premier acmé infectant (23.000), puis le 6 juin, à 40°3 (72.000), les 20 et 21 à 40° et 39°8 (19.000 et 52.000).

La courbe de poids ne cesse de croître de 250 à 440 grammes le 18 juin. Un faible amaigrissement se déclare pendant l'agonie et l'animal meurt à 405 grammes; *il a survécu quarante-six jours.*

Quelques heures avant la mort, l'animal présente de la parésie du train postérieur, *allant jusqu'à la paralysie.*

A l'autopsie, la cavité générale se révèle remplie de sang à la suite d'hémorragies non localisées.

L'*étude hématologique* a conduit aux remarques suivantes sur les variations de la formule leucocytaire.

Les *lymphocytes à corps de Kürloff* tendent à diminuer au cours de la maladie ; de 3,5 p. 100 globules blancs avant l'infection, ils tombent autour de 1 p. 100 à la fin de l'incubation bactériologique et à moins de 1 p. 100 ensuite : 0,6 p. 100 le 27 mai ; 0 le 29, 0,4 le 3 juin, 0,5 le 5 juin, 0 le 17 et réapparaissent à 1 p. 100 le jour de la mort.

Les *monocytes*, de 4,1 p. 100 avant l'infection accroissent leur pourcentage et après un léger clocher à 7,6 p. 100 le 17 mai, 9,3 p. 100 le 18, au moment de la première poussée thermique, reviennent à 5 p. 100, puis à l'apparition des parasites dans le sang, augmentent à nouveau à 7,7 p. 100 le 25 mai, 11,3 p 100 le 27 ; ils se maintiennent autour de ce taux avec toutefois une poussée à 18,8 p. 100 le 7 juin et 27 p. 100 le 24 juin, jour de la mort.

La concentration relative en *polynucléaires neutrophiles* ne subit que des variations de faible amplitude, sauf au moment de la mort où elle s'effondre de 30 p. 100 le 17 juin à 7 p. 100 le 24.

Le pourcentage des *polynucléaires éosinophiles* et *basophiles* ainsi que des *lymphocytes* varie peu durant la maladie.

Cobaye n° 35. — Ce cobaye mâle de 780 grammes, est infecté par voie sous-cutanée par *un million* de *T. equiperdum* le 12 juin 1946. Des parasites (moins de 1000/mm³) apparaissent dans le sang périphérique le cinquième jour. Après des périodes d'infection et de crises lytiques, l'animal meurt le 1er août 1946 avec une trypané-

mie de 480.000/mm³. Pendant l'agonie, de violentes crises toniques atteignent les pattes antérieures surtout. A ce moment, la température est à 35°3 et l'animal meurt deux heures après, *cinquante jours après l'infection.*

L'autopsie révèle une cavité générale remplie de sang et de caillots. La rate, très hypertrophiée, pèse 6,40 g., alors que le poids de l'animal atteint 585 grammes à ce moment.

Expérience n° 46, 3 septembre 1946.

Cobaye n° 87. — Le Cobaye mâle de 370 grammes, reçoit par voie sous-cutanée, *un million* de *T. equiperdum,* le 3 octobre 1946, La période d'incubation est de cinq jours puisque le 8, quelques parasites apparaissent dans le sang. L'animal meurt en *soixante-quinze jours* le 17 décembre en pleine infection.

Expérience n° 47, 4 septembre 1946.

Cobaye n° 85. — Ce Cobaye mâle de 500 grammes, reçoit *un million* de *T. equiperdum,* par voie sous-cutanée, le 4 septembre 1946. Le sang examiné sporadiquement présente des parasites qui provoquent la mort le 2 novembre.

Des lésions cutanées avec dépilation presque totale sont localisées sur l'arrière-train. Les bourses très œdématiées se déchirent à la fin de la maladie et dans une hémorragie, les testicules tombent. La mort survient en *cinquante-neuf jours.*

Expérience n° 58, 25 octobre 1946.

Cogaye n° 102. — Ce Cobaye mâle, de 390 grammes, reçoit le 25 octobre 1946, *1 million* de *T. equiperdum,* par voie sous-cutanée. Le 4 novembre, nous trouvons un parasite dans l'examen direct du sang, après une incubation maximum de dix jours (l'observation n'a pu être faite depuis le 30 octobre, cinquième jour où le sang était encore sans parasites apparents). Il meurt le 4 février 1947, *cent deux jours* après l'infection. Dans la phase prémortelle s'est développée une large dépilation du museau et de toute la partie postérieure du corps.

Cobaye n° 110. — Ce Cobaye mâle de 305 g. est infecté le 14 décembre dans les mêmes conditions. Positif le 12e jour, il subit une succession de crises lytiques et de rechutes et meurt le 8 avril 1947, *cent quinze jours* après l'infection.

Expérience n° 59, 31 octobre 1946.

Cobaye n° 106. — Ce Cobaye mâle de 380 grammes est infecté sous la peau par *un million* de *T. equiperdum.* Après une succession de crises infectantes et lytiques, l'animal meurt le 12 janvier 1947, *soixante jours* après l'infection.

Cobaye n° 107. — Celui-ci de 470 g. est infecté le 20 novembre et après une maladie de même type, meurt très infecté le 25 janvier 1947, *soixante-six jours* après l'infection. A ce moment, il présente

une forte dépilation dorso-ventrale postérieure et un gros œdème des organes génitaux externes.

Résumé des expériences ci-dessus.

Numéros des Cobayes	Poids	Taux d'infection sous-cutanée	Incubation	Mort après infection
2	385 g.	6 millions	3 jours	46 jours
9	270	6 »	3 »	47 »
10	220	6 »	3 »	38 »
0	460	1 million	13 »	33 »
24	380	1 »	6 »	88 »
25	450	1 »	6 »	61 »
17	250	1 »	15 »	46 »
35	780	1 »	5 »	50 »
87	370	1 »	5 »	75 »
85	500	1 »	< 22	59 »
102	390	1 »	≤ 10	102 »
106	380	1 »	< 17	60 »
107	470	1 »	< 14	66 »
110	305	1 »	12 jours	115 »

3° Conclusions générales.

L'inoculation sous-cutanée de *Trypanosoma equiperdum* aux doses massives de *six millions* ou *un million* est mortelle pour le Cobaye mâle. L'évolution de la maladie ne paraît être fonction ni du poids de l'animal, ni de la quantité de virus injecté, du moins pour ces deux densités ; cependant, l'incubation est écourtée à trois ou quatre jours pour six millions. La durée totale de maladie oscille entre trente-trois et cent quinze jours avec une moyenne de soixante-trois jours.

Trypanémie. — Dans l'infection à *un million*, l'incubation varie de cinq à quinze jours, les périodes critiques étant comprises dans les cinquième et sixième jours et dans les douzième à quinzième jours. La densité parasitaire est alors faible, inférieure à mille par millimètre cube; cette première poussée est suivie de lyse et de blanchiment, puis de rechutes avec taux septicémiques variables, jamais très intenses, sauf dans les derniers jours qui précèdent la mort où la trypanémie dépasse 200.000/mm³.

Dans le mode d'infection à *six millions*, une incubation courte de trois jours précède une septicémie massive, un ou deux jours après l'apparition des premiers parasites ; cette

invasion massive est de courte durée (vingt-quatre heures). Ex. : 210.000/mm³ Cobaye n° 10.

Dans une seconde phase qui se déclenche après un blanchiment de cinq jours environ, on retrouve, à peu de choses près, les caractéristiques de l'infection à un million.

L'évolution terminale peut être soupçonnée par la multiplication très active des parasites et la mort survient le plus souvent en pleine septicémie, à des taux quelquefois très élevés (Cobaye n° 0 = 696.000/mm³).

Température. — La septicémie initiale s'accompagne d'une poussée de température supérieure à 40°, atteignant même 41°1 (Cobaye n° 0) ; cette hyperthermie est suivie, dès le lendemain, d'un retour à la normale, oscillant autour de 39°. Toutefois, de temps à autre, on note de nouveaux clochers dont la pointe correspond en général au maximum de densité des parasites du sang circulant. La mort survient en hypothermie (< de 25°, une heure avant la mort).

Signes extérieurs. — Seulement lorsque la maladie se prolonge, on note de la dépilation et de la desquamation, ainsi que de l'œdème des bourses et rarement de la conjonctivite muco-purulente.

Poids. — Durant presque toute l'évolution de la maladie, le poids ne varie pas et même s'accroît chez les jeunes animaux ; un amaigrissement général précède la mort, allant jusqu'à la cachexie chez les animaux à évolution longue.

Formule sanguine. — Les éléments à corps de Kürloff diminuent et même disparaissent après l'infection. Une poussée monocytaire précoce se déclenche rapidement et se manifeste également au moment des poussées trypanémiques.

B) Sur la Souris et sur le Rat.

La maladie du Rat et de la Souris infectés expérimentalement par *Trypanosoma equiperdum* a été souvent décrite et ne nous a que peu retenu.

Nous disposons d'une souche qui tue 100 p. 100 le Rat et la Souris albinos ; ce n'est pas le cas pour toutes les souches : Schneider et Buffard (cités par Laveran et Mesnil) en Algérie ne réussissent pas l'infection, alors que Nocard [50 à 51] avec le même parasite réussit, temporairement d'ailleurs, pour

la Souris. Rouget (l. c.) par contre, tue avec la sienne. Watson (d'après Curasson l. c.) (1926) s'est astreint à de très nombreux essais négatifs avant de parvenir à tuer la Souris. Nattan-Larrier [52] (1921) met sept mois pour obtenir un virus fixe qui tue le Rat et six mois pour le virus qui tue la Souris. Morrell, Chapmann et Allmark [53] (1937) trouvent chez le Rat de grandes différences de sensibilité mais la résistance, d'après ces auteurs, diminue si l'on infecte massivement à deux millions par exemple.

Pour Perla [54] (1935), l'évolution clinique du Rat est fonction également du taux d'infection : de nombreux parasites inoculés donnent la mort rapidement (trois jours), 2000 parasites tuent en dix-neuf jours et moins de 2000 ne conduisent pas à une mort certaine. Kolmes, Schamberg et Raiziss [55] généralisent cette observation, quelle que soit la souche.

La question si débattue de la *glycémie* sera reprise lors de l'étude de la trypanosomose expérimentale du Lapin et dans la bibliographie des diamidines ; notons seulement que les animaux meurent en hypoglycémie et que des injections de glucose à la Souris à l'agonie provoquent une véritable résurrection, mais de courte durée, vingt-quatre à trente-six heures (Dubois) [56]. Voici quelques exemples résumés de la maladie du Rat, infecté par voie sous-cutanée, par nous-même.

Expérience	Rat N°	Poids (g.)	Incubation	Mort	Taux d'infection
16	21	130	5 jours	7 jours	1 million
»	22	170	5 »	7 »	1 »
17	32	130	5 »	11 »	1 »
25	77	145	4 »	7 »	1 »
28	129	110	3 »	5 »	1 »
41	242	180	4 »	8 »	1 »
»	243	85	5 »	8 »	1 »
44	244	100	6 »	10 »	1 »
»	269	110	4 »	9 »	1 »
48	250	100	4 »	7 »	1 »
8	1	97	4 »	7 »	500.000
21	53	175	5 »	8 »	100.000
50	268	22	3 »	6 »	10.000 (Raton)
»	285	33	4 »	7 »	10.000

De ce tableau, nous pouvons admettre une moyenne de sept jours et demi pour l'évolution de la maladie avec des extrêmes de cinq à onze jours.

Quant à la Souris, elle meurt rapidement aussi, entre quatre et sept jours après l'infection expérimentale.

C) Sur le Lapin.

1° Bibliographie.

Le Lapin est un animal sensible à l'infection expérimentale par *T. equiperdum*. N'est-ce pas d'ailleurs sur lui que Soldini [57] suggère un procédé rapide et pratique de diagnostic expérimental de la dourine ; l'auteur inocule dans les testicules d'un Lapin de la sérosité des lésions génitales ou à défaut du sang de l'animal supposé infecté ; les testicules forment en effet un milieu éminement favorable à la multiplication de *T. equiperdum* et les lésions se développent entre quatre et huit jours.

La symptomatologie de la trypanosomose à *T. equiperdum* chez le Lapin est variée. Etudiés par de nombreux auteurs, les signes d'infection ont fait l'objet de belles descriptions par Rouget et Uhlenhuth (l. c.). Ces derniers signalent une fièvre initiale qui correspondrait à une phase de multiplication des parasites. Zwick et Fischer [58] voient des parasites dans le sang périphérique deux à trois jours ou sept à dix jours après l'inoculation. La poussée fébrile est suivie d'une courte phase d'apyrexie qui cède elle-même devant une longue période de fièvre que Rouget précise en accès. L'hypothermie est la phase terminale.

Les divers signes cliniques que notent ces auteurs sont des œdèmes et des lésions cutanées, surtout localisées à la tête et aux organes génitaux.

L'étude du sang a révélé, à côté de l'infestation sporadique par les parasites, des altérations cellulaires. Nicolle [59] observe des vagues successives d'hypoglobulie avec poussées de réticulocytes séparées par des rémissions plus ou moins complètes. Poindexter (l. c.) note un accroissement temporaire des hématies et normoblastes.

Quant à la glycémie de l'hôte trypanosomé, la bibliographie est abondante pour les divers virus. Tous provoquent de l'hypoglycémie, progressive ou terminale suivant les auteurs. Pour Locatelli [60] qui observe des altérations des îlots de Langerhans, toujours confirmées chez le Cobaye, celles-ci seraient

la cause de ce disfonctionnement. En tout cas, la mort survient toujours en hypoglycémie profonde. Locatelli a observé chez un Lapin infecté par *T. equiperdum* une glycémie de 18 milligrammes pour cent grammes à la période agonique, alors que, quelle que soit la trypanémie, la glycémie avait oscillé durant toute la maladie entre 90 et 120 mg. Mais n'oublions pas que l'hypoglycémie agonique n'est nullement spécifique de la trypanosomose.

La dourine du Lapin est mortelle pour les différents auteurs, sauf pour Lignieres [61] qui estime qu'en un an, le Lapin guérit spontanément de son infection à *T. equiperdum*. Zwick et Fischer (l. c.) indiquent une évolution mortelle moyenne de trente-quatre jours et Rouget (l. c.) de 1 à 4 mois.

La mort est expliquée différemment par les auteurs. Sans nous arrêter aux démonstrations d'hypoglycémie, d'acidose et d'endotoxines, facteurs étudiés sur d'autres virus que *T. equiperdum*, rappelons qu'Andrews, Johnson et Dormal [62] cherchent à expliquer la mort par des phénomènes d'asphyxie et d'œdèmes pulmonaires dûs à une obstruction partielle de la circulation par agglutination des trypanosomes dans le cœur et les poumons. Cette dernière explication fait cependant sa part à l'acidose due à l'anoxémie et à une nécrose du foie, interférant sur ses deux fonctions glycogénique et glycogénolytique conduisant enfin à l'hypoglycémie. Zwemer et Culbertson [63] voient une similitude apparente entre les spasmes terminaux des animaux trypanosomés et les spasmes dûs à l'empoisonnement au potassium ; ils dosent cet élément dans le sérum et trouvent en effet que K augmente considérablement avant la mort.

Sur les différents points cliniques, biochimiques ou autres, de nombreuses divergences persistent.

Ci-dessous nos propres observations.

2° Protocoles expérimentaux.

Lapin n° 1. Expérience n° 4, 17 décembre 1945.

Mise en observation. — Le 17 décembre 1945, nous mettons en observation un Lapin mâle à pelage blanc et yeux rouges, pesant 3 kilogrammes. L'animal est maintenu dans une cage spéciale d'expérimentation qui permet de recueillir l'urine, après passage au travers d'une double trémie métallique pour séparer les excréments et déchets d'alimentation ; l'urine est récoltée dans un récipient de verre sous la cage.

Durant la période d'observation qui s'étend jusqu'au 7 janvier 1946, sont notés les variations de poids, de température rectale, le volume d'urine émise et les taux de certains constituants urinaires normaux : ClNa (Charpentier-Volhard); Urée (méthode gazométrique) et anormaux (albumine-glucose). L'étude de la glycémie (microdosage de Baudouin-Lewin) termine l'observation. Voici les chiffres moyens et les extrêmes, durant cette période :

Poids (en g.)	Température rectale	Volume urinaire cm³/24 h.	ClNa urinaire g. p. 1000	Urée urinaire g. p. 1000	Albumine urinaire	Glycémie g. p. 1000
3050	39°3	160	4,30	9,75	0 à traces	1,05
2940 à 3140	38,8 à 39,9	60 à 224	3 à 5,6	5,50 à 12,30	»	0,93 à 1,27

Infection. — Le 7 janvier 1946, nous injectons, par voie intraveineuse, une suspension dans du sérum à 9 p. 1000 de ClNa et 1 p. 1000 de glucose, de *un million* de *T. equiperdum;* ce parasite est prélevé suivant le procédé habituel dans le ventricule droit d'une Souris en pleine trypanémie.

Maladie. — a) *Lésions cutanées.* — Après neuf jours d'incubation clinique, le 16 janvier, la première manifestation externe apparaît sous forme d'un léger œdème de la base de l'oreille gauche qui est plus chaude que l'autre ; dans la soirée, le fourreau est œdématié à son tour ainsi que le scrotum gauche ; le lendemain, cet œdème devient bilatéral tandis que celui de l'oreille s'étend. Cet état s'accentue et le 21, un léger suintement se manifeste sur l'oreille gauche gonflée chaude et lourde ; le 25, après l'œdème du fourreau qui s'est accentué, apparaît du phimosis. Le 30 (vingt-troisième jour) une nouvelle localisation marque l'extension de la maladie ; la paupière inférieure gauche est enflammée et la joue gauche légèrement enflée ; le visage vu de face devient asymétrique. Dès lors, les divers symptômes s'accentuent ; le 31, des squames et des croutes formées sur l'oreille se détachent avec des touffes de poils. La pointe de la verge se nécrose ; le fourreau laisse suinter un écoulement d'abord transparent, puis le 4 février, sanguinolent; nous ne trouvons pas de parasites, ni dans le liquide d'œdème du fourreau, ni dans le liquide du sillon balanoprépucial. La conjonctivite qui s'accentue sur l'œil gauche atteint l'œil droit ; les oreilles sont tombantes et il y a une nette dépilation sur l'oreille gauche, la première atteinte. Le 7 février (trente et unième jour) la base de l'oreille droite s'œdématie à son tour ; les muqueuses des paupières sont injectées de sang et les paupières elles-mêmes sont gonflées. Le 14, il se forme un écoulement mucopurulent sur le pourtour de l'œil gauche ; l'asymétrie de la tête s'accentue par un œdème des lèvres, surtout des inférieures et par la chute de poils de plus en plus abondante sous le menton. Le 23 février (quarante-septième jour) l'œil gauche est totalement obturé par des croutes de pus desséché. Le 27, l'animal a du jetage des narines ; l'œdème du fourreau qui avait quelque peu re-

gressé s'accentue ; le 28, la narine supérieure devient purulente et le 2 mars (cinquante-quatrième jour), les deux narines sont recouvertes de pus desséché. C'est avec des lésions cutanées, des squames, des dépilations, des œdèmes et de la suppuration que nous retrouvons le Lapin mort le 4 mars, *cinquante-six jours* après son infection intraveineuse.

b) Température. — La température, durant ces cinquante-six jours de maladie s'est fort éloignée de la normale. Normale jusqu'au 9 janvier, elle monte à 40°1 le 10 (troisième jour) en un brutal clocher sans lendemain. Le 15 (huitième jour) un nouveau clocher la porte à 40°3 et le 16 à 40° ; un nouveau répit est laissé à l'animal jusqu'au 22. Le 23 (seizième jour), une fois encore, la température dépasse 40 et ne va plus descendre en dessous de ce niveau d'hyperthermie caractérisée à trois exceptions près. La courbe est assez régulière autour de 40°5 (moyenne du 23 janvier au 23 février : 40°6 ; extrêmes 39,4 une fois, 39,9 deux fois, à 41°2); ce plateau d'un mois s'effondre le 25 février (quarante-neuvième jour) à 39°2 et après une dernière poussée les 27 et 28 et 1er mars à 40°9, 40,6, 40,4, elle tombe le 2 mars à 38°6, dernière prise avant la mort constatée le 4.

Il est à noter que les prises de température le matin et le soir n'ont pas marqué de cycle nyctéméral net, ni de rémission, même durant toute la crise hyperthermique.

c) *Poids.* — Le poids n'a guère varié au début de la maladie, mais la seconde moitié de celle-ci a vu s'instaurer un amaigrissement progressif de plus en plus accentué, bien que l'animal s'alimente jusqu'à l'approche extrême de la mort. De 3150 grammes environ durant la première moitié de la maladie jusqu'au début de février (3150 grammes le 30 janvier) le poids s'abaisse à 3050 g. le 6 février, 3000 du 9 au 14, 2850 du 18 au 22 et s'effondre à 2450 le 25, malgré un léger gain à 2580 le 2 mars; le poids est de 2330 g. le 4 mars à l'autopsie. Le Lapin a perdu plus de 25 p. 100 de son poids initial, plus de 800 grammes pour 3150 environ en un mois.

d) *Urine.* — Volume. — Le volume des mictions urinaires quotidiennes ne semble pas essentiellement perturbé, restant égal sinon supérieur au volume moyen initial. Ainsi depuis l'infection jusqu'au 20 février, soit pendant la majeure partie de la maladie (quarante-quatre jours sur 56) la moyenne journalière reste élevée à plus de 200 cm³ (215 cm³ extrêmes 140 à 345 cm³). Une nette oligurie marque les derniers jours, 20 février, 300 cm³ ; 21, 240 ; 22, 185 ; 23, 150 ; 26, 70 ; 27, 70 cm³. Une légère reprise à 105 cm³ le 28, 160 le 1er mars et 120 le 2 arrête et annule ce début d'oligurie. A l'autopsie, le 4, la vessie est vide.

Chlore. — Le pourcentage de chlore urinaire émis ne subit pas de variations sensibles, sauf à la fin de la maladie. Depuis l'infection jusqu'au 23 février, la moyenne reste voisine de la normale, à 3,90 g. par litre, exprimés en ClNa (extrêmes 1,3 à 8,20). Mais depuis le 26, où simultanément le volume urinaire diminue, le

pourcentage de chlore s'abaisse : 2,50 g. p .1000 le 26, 2 g. le 27 ; 1,90 g. le 28 ; 1 g. le 1er mars et 1,50 g. le 2 mars.

Urée. — Le pourcentage d'élimination d'urée urinaire présente une légère tendance à s'accroître. Jusqu'à fin janvier, en trois semaines de maladie, la moyenne passe à 10,90 g. p. 1000. En février, elle s'élève du 1er au 20 à 11,90 g. p. 1000 (extrêmes 6 à 17,80 p. 1000) et enfin du 21 février au 2 mars monte à 16,20 g. (extrêmes 13,40 à 18,60 p. 1000).

Albumine. — La recherche d'albumine urinaire est restée négative jusqu'au 29 janvier (ving-deuxième jour) où des traces apparaissent et persistent jusqu'à la mort sans jamais atteindre une quantité aisément dosable.

Glucose. — Jamais la recherche de glucose ne s'est avérée positive.

e) *Sang.* — L'étude du sang n'a pas été poursuivie systématiquement chez cet animal.

Pouvoir infectant. — Une ponction cardiaque a permis de passer à trois Souris respectivement 1 cm^3 de sang par voie sous-cutanée, le 28 janvier, soit vingt et un jours après l'infection. Le 2 février, toutes les trois étaient infectées.

Glycémie. — Celle-ci a peu évolué : par exemple de 1 g. p. 1000 le 19 janvier, elle passe à 1,30 g. le 6 février, 1,23 g. le 12 ; mais vers la fin de la maladie, elle s'abaisse à 0,88 g. le 23 février ; 0,95 g. le 25 ; 1,08 g. le 26 et 0,88 le 2 mars, l'avant-veille de la mort.

Autopsie. — Le 4 mars, peu de temps après la mort, l'autopsie révèle la présence de liquide d'ascite, environ 30 cm^3 sans parasites.

La rate, de consistance et d'aspect normaux, pèse 2,33 g.

Les poumons sont légèrement œdématiés, le droit est exsangue et le gauche hémorragique à la base. Le cœur est entouré d'un peu de liquide péricardique, sans trypanosomes. Par ponction du 4e ventricule nous n'obtenons pas de liquide céphalo-rachidien.

Lapin n° 3. Expérience n° 6, 12 mars 1946.

Mise en observation. — Le 12 mars 1946, nous mettons en observation dans les mêmes conditions que pour le Lapin n° 1, un Lapin femelle à pelage noir et yeux bruns, née le 3 novembre 1945. Durant la période d'observation qui s'étend jusqu'au 21 mars 1946, nous observons les variations de poids, de température rectale, de volume urinaire, ainsi que du taux de chlore et d'urée urinaires. Le dosage de la glycémie et la recherche d'albumine complètent le tableau d'observation auquel nous adjoignons pour ce Lapin une étude de la formule leucocytaire.

Voici les chiffres moyens et les extrêmes durant cette période :

TABLEAU I.

Poids en g.	Température rectale	Volume urinaire cm³/24 h.	ClNa g. p. 1000 urinaire	Urée g. p. 1000 urinaire	Albumine urinaire	Glycémie g. p. 1000
2500 2200 à 2600	39°3 39° à 39,6	90 23 à 195	1,80 1 à 2,70	9,70 5,50 à 15	0 à traces faibles	1,14

TABLEAU II.

Hématies par mm³	Leucocytes par mm³	Polynucléaires neutrophiles	Eosinophiles	Basophiles	Lymphocytes	Monocytes
6.550.000	10.800	27,9 p. 100	1,3 p. 100	6,3 p. 100	61,8 p. 100	2,7 p. 100

Infection. — Le 21 mars 1946, nous injectons dans la veine marginale de l'oreille gauche, une suspension *d'un million* de *T. equiperdum*, prélevé par ponction cardiaque d'une Souris.

Maladie. — a) *Lésions externes.* — Après sept jours d'incubation clinique, le 28 mars, apparaît la première manifestation externe de la maladie, sous forme d'un léger œdème susorbitaire gauche ; il se forme une petite dépilation en « lunette » autour de l'œil gauche, tandis que l'œdème s'accentue. Le 3 avril (treizième jour) une nouvelle plaque d'œdème atteint la face gauche du museau tandis que le lendemain, les deux yeux paraissent enfoncés sous des paupières supérieures œdématiées, chaudes et proéminentes. Vers le 6, la plaque d'œdème du museau diminue et s'efface.

Le 8 (dix-huitième jour) des sécrétions mucopurulentes infectent l'œil gauche qui s'oblitère sous une suppuration lactescente. Ce même jour, une plaque d'œdème se localise sur la base de l'oreille gauche qui perd quelques touffes de poils, des squames épidermiques et, les lésions atteignant le derme, il se forme un début d'escarre. De même, le 9, l'œdème des yeux qui s'accentue provoque à gauche une escarre à la commissure antérieure de l'œil, difficilement visible sous l'abondant écoulement purulent où nous ne trouvons pas de parasites. L'œil droit, à son tour, suppure à partir du 12 (ving-deuxième jour). L'infection d'abord localisée à gauche, s'étend à droite et après l'œil atteint l'oreille et le 15, la base de l'oreille droite est œdématiée.

Puis la maladie atteint les organes génitaux ; en effet, le 17 avril (vingt-septième jour) la vulve est œdématiée et se tuméfie. L'ensemble de ces symptômes va s'accentuer et s'étendre. Le 23, l'ani-

mal présente du jetage des narines qui commencent à porter des croûtes ; celles-ci se décollent sous l'effet de l'œdème qui atteint également les lèvres et plus spécialement les lèvres supérieures.

Le 26 avril (trente-sixième jour) se forme, sur la face externe de la patte arrière droite, une escarre d'abord sèche, puis sanguinolente sur laquelle les poils tombent de plus en plus. Cette lésion cutanée se renouvelle sur la patte gauche dix jours plus tard, le 6 mai (quarante-sixième jour).

L'aspect de la tête, de plus en plus dépilée, purulente et sanguinolente, joint à celui des deux pattes postérieures, atteste les progrès du mal et les yeux, notamment, obturés par le pus, ne permettent plus à l'animal de voir autour de lui. Le 11 juin (quatre-vingt deuxième jour), nous lavons les yeux avec du sérum isotonique et décollons les croûtes des paupières et des zones périorbitaires ; alors nous constatons que le cristallin gauche s'est opacifié tandis que les bords des paupières sont cicatrisés mais ont pris un contour dentelé et bourgeonnant, la dépilation périphérique est totale.

Le 21 juin (quatre-vingt douzième jour) apparaît de la raideur du train postérieur, la marche devient du type plantigrade, tandis que l'escarre de la patte postérieure droite saigne abondamment. Le 22, les hémoragies s'accentuent et le 24, au matin, nous retrouvons l'animal mort le quatre-vingt quinzième jour de sa maladie.

b) *Température.* — Normale le 22 mars, elle saute brusquement le 23 (deuxième jour) à 40°7 et est encore à 40°5 le 25 pour s'effondrer à 39°5 le 26 au matin et 37°1 le soir ; puis pendant quatre jours, elle reste normale autour de 39°3 pour remonter soudainement à 40°2 le 31 (dixième jour) et reste à plus de 40° pendant la quasi-totalité de l'évolution de la maladie. Ainsi, les moyennes avec les extrêmes pour les mois d'avril et de mai sont les suivantes :

Avril		Mai	
		Moyenne : 40°1	
Moyenne : 40°4			
Extrêmes : 39°6, 2 fois 39°7, 1 fois 39°9, 1 fois	à plus de 40° maxima 41°2	39°5, 2 fois 39°6, 2 fois 39°7, 1 fois 39°8, 1 fois 39°9, 3 fois	à plus de 40° maxima 41°

Puis en juin, il semble se produire un dérèglement : encore à 40° le 5 juin, elle tombe à 39°4 le 6, à 39° le 11 pour monter à nouveau à 40°1 le 12 et le 13. Mais c'est l'avant-dernière fois que l'hyperthermie se manifeste et dès lors, la *température diminue assez régulièrement* : 39°8 le 14 ; 39°6 le 17 ; 38°8 le 18. Un dernier sursaut marque les journées du 19 et du 20 à 39°3 et 39°7. Puis l'hypothermie agonique s'installe et s'accentue à 38°7 et 38°1 le 21 et 37°4 le 22, l'avant-veille de la mort constatée. On doit donc observer que pendant soixante-six jours de suite, l'animal a vécu en hyperthermie prononcée sans montrer pour autant ni perte d'appétit, ni diminution du volume urinaire émis, ni diminution de poids, du moins dans la majorité de la crise.

c) *Poids.* — Pendant la majeure partie de la maladie, le poids de cette Lapine ne varie pas ; ainsi en mars, la moyenne reste à 2530 grammes (extrêmes 2450 et 2610) ; en avril, elle est de 2465 grammes (extrêmes 2370 et 2580) ; en mai, elle reste encore à 2500 grammes (extrêmes 2380 et 2610). Mais survient en juin un amaigrissement profond qui atteint à la cachexie. Ainsi, par exemple, de 2450 grammes, le 1er juin, le poids passe à 2300 le 12, 2140 le 17, 1860 le 19, 1800 le 21 et à l'autopsie le 24, 1650 g. La moyenne s'est abaissée à 2175 g. mais c'est évidemment la perte finale qui est considérable : 1650 g. à la mort par rapport au poids initial moyen de 2500 grammes, soit 34 p. 100 de perte. C'est là un amaigrissement considérable en trois semaines.

d) *Urine.* — Le volume d'urine émis quotidiennement reste élevé et assez régulier, même supérieur à celui de la période d'observation jusqu'à la période agonique ; à ce moment, le 21 juin, les mictions fournissent 210 cm³, le 22, 50 cm³ (la mort est constatée le 24). Les moyennes journalières pour les mois suivants sont de :

Mars	138 cm³	.....	85 à 180 cm³
Avril	119 cm³	.....	5 à 330 cm³
Mai	93 cm³	.....	10 à 200 cm³
Juin	157 cm³	.....	50 à 290 cm³

Chlore. — Le chlore éliminé est dosé par la méthode de Charpentier-Volhard et exprimé en ClNa p. 1000 g. d'urine. Dès l'inoculation parasitaire, le chlore diminue et de 2,80 g. p. 1000 le 21 mars, il tombe à 1 g. le 26, 0,60 g. le 27 et 0,50 g. le 28. Puis, il se relève à 1,20 g. le 29, 3 g. le 30 et va rester, malgré quelques sautes sans raison apparente, à un chiffre voisin ou un peu supérieur à la normale. Ainsi, en avril, la moyenne est de 2,80 g. (0,80 à 6,10 g. p. 1000) ; en mai, il y a une augmentation assez nette à 7,10 g. (1,20 g. à 12 g. p. 1000) mais l'élimination chlorurée va baisser à la fin de la maladie ; encore à 6,50 g. p. 1000 le 4 juin, elle passe entre autres à 3,1 g. le 6, 1 g. le 12, 3,80 g. le 14 et le 20, 2,60 g. le 21, dernier dosage possible, puisque le sang des escarres tombant dans l'urine rendrait illusoire toute interprétation. La moyenne journalière pour juin s'établit à 2,80 g. p. 1000 (1 g. à 6,50 g.).

Urée. — L'élimination de l'urée urinaire, dosée par gazométrie, s'accroît assez régulièrement durant presque toute l'évolution de la maladie, sauf à la fin de celle-ci. Dès l'infection, le taux de 10 g. p. 1000 est dépassé ; par exemple, le 26 mars, 13,90 g.; le 27, 12,60 g.; le 29, 11,80 g. La moyenne de mars est, après l'inoculation, de 10,60 g. (extrêmes 6,30 g. à 13,90 g.). En avril, l'augmentation est plus sensible ; la moyenne s'établit à 19,20 g. (extrêmes 4,30 g. à 45 g.). En mai, la moyenne s'accroît encore à 27,20 g. (extrêmes 10,80 g. à 54,40 g.). Mais comme pour le chlore, l'élimination uréique s'atténue dans les trois dernières semaines de la maladie. De 31,10 g. le 29 mai et 29,70 g. le 1er juin, le taux tombe, entre autres, à 19 g. le 5, 8,10 g. le 7, 8,60 g. le 12, 9,20 g. le 14, 4,3 g. le 15. Un sursaut à 34,50 g. le 18 est sans lendemain et s'amorce

une nouvelle baisse à 19,30 g. le 19 ; 18 g. le 20 et 15 g. le 21, dernier dosage avant la mort.

Albumine urinaire. — Les faibles traces déjà notées pendant la période d'observation continuent pendant tout le début de la maladie et ont même tendance à s'accroître ; progressivement, elles atteignent des quantités importantes. Alors que jusqu'au 16 avril, il n'y eut que des quantités non dosables, brutalement le 18 avril (vingt-huitième jour), un dosage par pesée révèle 1,32 g. p. 1000 et le 19, 1 g. p. 1000. Ce taux va s'accentuer et atteindre 3.20 g. le 24 pour ne laisser le 25 que des traces nettes, puis infimes le 27. Mais à partir du 30, la quantité d'albumine doit être dosée quotidiennement car chaque dosage révèle une albuminurie élevée et constante. Voici quelques résultats :

Mai :	3	1,25 g. p. 1000	Juin :	1	2 g. p. 1000
	8	1		4	3
	9	2,12		6	0,50
	11	0,50		12	0,50
	15	1,95		14	0,90
	17	1,40		18	2,20
	21	8,20		20	1
	28	2,85		21	1,20

La présence dans l'urine du sang d'hémorragies externes empêche tout dosage les derniers jours de la maladie.

Glucose. — La recherche du glucose urinaire s'est toujours révélée négative.

e) *Sang.* — Hématies. — Dès l'infection, des altérations sanguines apparaissent ; le 23 mars (48 heures), de nombreuses hématies basophiles voisinent avec quelques microhématies et nous trouvons quelques très rares hématies nucléées ; le 28 (septième jour) une numération révèle une anémie précoce (3.520.000 hématies par mm³) ; on observe en même temps de l'anisocytose et de la poïkylocytose. La polychromatophilie persiste. Puis la régénération cellulaire, soupçonnée par la présence des hématies nucléées, se confirme et les numérations attestent l'amélioration :

4 avril..... 5.640.000
8 avril..... 4.920.000
11 avril..... 5.800.000 et jusqu'à la fin du mois, ce chiffre est maintenu. Des hématies nucléées sont encore repérées les 6, 10, 12 et 19 avril, les autres jours, nous n'en trouvons plus et cela jusqu'à la mort.

Globules blancs. — Alors que l'anémie se manifeste, le nombre des globules blancs semble rester stationnaire ; en effet, le 28 mars, nous en dénombrons encore 10.300 par mm³. S'amorce une légère leucocytose à 15.500 le 8 avril qui régresse d'ailleurs à 11.800 le 9, 8.500 le 11 ; le taux se stabilise alors à 9.400 le 17, 8.600 le 19, 9.600 le 23.

Formule leucocytaire. — Sans vouloir étudier les phénomènes d'anémie ou de variations absolues leucocytaires, nous avons par

contre porté notre attention sur les variations de la formule leucocytaire en observant tout spécialement les *monocytes*. De 2,7 p. 100 avant l'inoculation infectante, le pourcentage de ces formes mononucléaires passe au taux énorme de 30,7 p. 100 le 25 mars (4e jour) et 39,6 p. 100 le 26 (5e jour). Puis, il y a régression autour de 18 p. 100 pendant les cinq jours suivants et le 3 avril (treizième jour), la proportion des monocytes revient autour de 5 p. 100 où elle se maintient, compte tenu de quelques oscillations de faible amplitude. Toutefois, les 18 et 19 avril, une nouvelle crise se déclenche : de 5,2 le 17, le pourcentage saute à 18,2 le 18 et 15,9 le 19. Mais c'est sans lendemain et le 21, nous retrouvons 4,8 p. 100 ; dès lors, le chiffre relatif des monocytes oscille entre 3,6 et 10,3 jusqu'à la mort.

Le pourcentage des polynucléaires *neutrophiles* ne varie pas sensiblement, sauf, à la fin de la maladie où il s'élève considérablement. De 28,7 p. 100 le 24 avril, il passe à 42,1 le 27, 50,5 le 14 mai ; 53,2 le 7 juin, 63,4 le 11 ; 74 le 17, 79 5 le 20 et 76,1 le 22, avant-veille de la mort constatée. Les polynucléaires *éosinophiles* par contre, ont tendance à diminuer, voire même à disparaître ; en effet, jamais plus après l'inoculation parasitaire, le pourcentage n'atteint 1 p. 100 et il tombe même à 0, dix-sept fois sur trente-quatre formules, soit sur la moitié des recherches et entre autres à deux périodes notamment, l'une précoce du 31 mars au 3 avril, puis du 6 au 13 avril. La fin de la maladie fournit également des frottis sans éosinophiles (par exemple les 7, 11 et 22 juin). Les polynucléaires *basophiles* ont, par contre, une tendance marquée à accroître leur pourcentage, mais cela seulement au début de la maladie ; de 6,3 p. 100 avant l'inoculation, ils passent à 12,2 p. 100 le 27 (sixième jour), 16,8 p. 100 le 30, 18,5 p. 100 le 31 et après une légère diminution dans les tout premiers jours d'avril, ils passent à 22,5 p. 100 le 4 mai, 25 p. 100 le 5, 36,5 le 8 (dix-huitième jour). Dès lors, ils vont diminuer et se stabiliser autour de 5 p. 100. Par exemple, nous trouvons 14,8 le 11 mai ; 13,3 le 12 ; 5,5 le 13 et le 16 ; 6,2 le 21, etc... La fin de la maladie marque encore une diminution à 2,4 le 7 juin ; 2 le 11 ; 0,6 le 20 et 3,3 le 22.

Pouvoir infectant. — Le sang du Lapin est infectant pour la Souris le 26 mars (*cinquième jour*), bien que nous ne trouvions pas de parasites visibles à l'examen direct ; deux Souris en effet reçoivent par voie sous-cutanée, chacune 1,50 cm³ de sang prélevé par ponction cardiaque aseptique ; des parasites apparaissent dans leur sang trois jours plus tard et meurent en pleine trypanémie respectivement les 2 et 3 avril.

L'examen des frottis du sang périphérique révèle les premiers parasites le 29 mars (huitième jour) où nous les avons comptés par rapport aux globules blancs ; nous en trouvons ce jour là 1,7 p. 100 leucocytes. Les jours suivants, ce pourcentage s'abaisse à 0,6 le 30, 0,5 le 31 et 0,1 le 1er avril ; ils disparaissent jusqu'au 6 où nous en retrouvons 1,1 p. 100. Ensuite, jusqu'au 20 juin, nous n'en observons plus une seule fois. Pourtant, le 6 mai, du sang prélevé à la veine marginale de l'oreille et passé à deux Souris (0.75 cm³ chacune) par voie sous-cutanée, infecte ces Souris qui présentent

des parasites le 13 (septième jour) et meurent les 14 et 15 mai. Enfin, la réapparition des parasites a lieu à la période agonique ; en effet, le 20 juin, nous trouvons deux parasites à un examen direct très attentif ; un frottis donne un parasite pour trois cent vingt leucocytes ; le 21, les trypanosomes augmentent mais n'atteignent pas 1.000 au mm³ alors que le 22, nous en numérons 2.000 au mm³.

Ce début de courbe ascendante n'a pu être complété et l'animal est retrouvé mort le 24.

La recherche du pouvoir agglutinant du sang a été faite une fois le 16 avril. Au dixième et au centième, le sang agglutinait encore massivement le virus homologue *T. equiperdum* prélevé chez une Souris en pleine infection.

Glycémie. — Les quelques dosages de glycémie opérés durant l'évolution de la maladie ont indiqué des chiffres voisins de la normale. Toutefois, vers la fin, il semble y avoir une légère baisse : ainsi le 29 mai, nous trouvons 0,81 g. p. 1000 et le 21 juin, trois jours avant la mort 0,91 g. p. 1000.

Autopsie. — L'autopsie est pratiquée trop tardivement sur l'animal retrouvé mort, froid et en rigidité cadavérique. Nous ne pouvons noter avec intérêt que la nette hypertrophie de la rate qui pèse 7,07 g.

Lapin n° 4 — Expérience n° 7 — 12 mars 1946.

Mise en observation. — Le 12 mars 1946, nous mettons en observation, dans les conditions habituelles, un Lapin mâle, né au laboratoire le 3 novembre 1945. Comme pour le Lapin n° 3, nous suivons les variations de poids, de température, de volume urinaire, ainsi que les taux d'urée et de chlorure. La recherche d'albumine et l'étude du sang terminent le tableau d'observation.

Les indications moyennes sont les suivantes :

Poids en grammes	Température rectale	Volume urinaire cm³ 24 h	Cl Na g. p. 1000	Urée g. p. 1000	Albumine urinaire	Glycémie g. p. 1000
2550 2400 à 2700	39°2 38°6 à 39°5	120 65 à 230	2,40 0,90 à 5,20	9,80 6,50 à 17,1	0 à traces	1,15

Hématies par mm³	Leucocytes	Polynucléaires			Lymphocytes	Monocytes
		Neutrophiles	Eosinophiles	Basophiles		
6.800.000	7400	50,1	1	8	35,7	5,2

Infection. — Le 28 mars 1946, nous injectons dans la veine marginale de l'oreille droite une suspension d'un million de *T. equiperdum* prélevé sur une Souris, par ponction cardiaque.

Maladie. — a) *Lésions cutanées :* C'est le 8 avril, après onze jours d'incubation clinique que la première manifestation externe de la maladie apparaît sous forme d'un œdème du fourreau. Le surlendemain, le sillon balano-préputial est imprégné d'un suintement transparent. Ce même jour se remarque une zone œdémateuse sur le devant du museau ; la tête semble élargie. Les jours suivants, l'œdème du fourreau s'accentue, il y a du paraphimosis ; les testicules perdent de leur mobilité dans le scrotum et sont douloureux au palper ; le 15 avril (dix-huitième jour), les deux bourses sont œdématiées et les enveloppes se durcissent et se sclérosent. Le 16, la verge est complètement cachée sous le fourreau et l'on ne peut plus la mettre à nu. A ce moment, la patte arrière gauche marque de la raideur et une légère paralysie.

Puis, la généralisation de la maladie se manifeste par une nouvelle localisation des œdèmes, simultanément à la base des deux oreilles le 17 avril (vingtième jour). Le 21, la marge de l'anus est œdématiée à son tour, ainsi que les lèvres. L'œil droit également présente une zone d'œdème périorbitaire. La paralysie de la patte postérieure gauche s'est accentuée ; le réflexe rotulien est normal ; le Lapin marche et court encore, mais s'il pose sa sole plantaire normalement, il ne s'y appuie pas.

Le 24, oreilles chaudes et lourdes ; perte de petites touffes de poils ; zones d'épilation sur le museau et le pourtour des yeux.

Les lésions génitales externes s'aggravent ; le 25 (vingt-huitième jour), il se produit une éventration testiculaire droite avec fortes hémorragies. Dans l'urine, nous trouvons de nombreux spermatozoïdes tous immobiles au moment de l'observation microscopique. Les hémorragies diminuent dans la journée du 26, puis le 27, après une déchirure accentuée de l'enveloppe testiculaire droite, il y a perte du testicule et de lambeaux de la bourse droite. Une nouvelle hémorragie accompagne cet accident et tout dosage dans l'urine est provisoirement impossible. Les lésions faciales s'aggravent également et le 2 mai (trente-cinquième jour) les deux yeux sont œdématiés ; il s'installe de la conjonctivite bilatérale, il apparaît ce jour là également du jetage des narines.

L'état général semble s'aggraver rapidement, la dépilation de la tête se généralise, le pus apparaît sur les narines le 18 mai et s'y dessèche en croutes qui tombent et se reforment constamment. Une zone de dépilation est visible sur la face externe de la patte postérieure droite, tandis que la paralysie de la patte postérieure gauche est totale ; au toucher de l'articulation fémoro-tibiale, l'animal marque une vive douleur ; le Lapin ne se déplace plus qu'à grand peine, semble instable et prêt à tomber sur le flanc. Les oreilles chaudes et lourdes, couvertes de squames, sont tombantes ; les sécrétions mucopurulentes des narines et des yeux s'accroissent ; l'anus est tuméfié ; la cachexie comme nous allons le voir, est profonde et le 30 mai, l'animal meurt soixante-trois jours après l'inoculation parasitaire.

b) *Température :* Quarante-huit heures après l'infection intraveineuse, la température monte brutalement à 40,5°, elle est encore à 40,5° le 1er avril au matin (quatrième jour). Cette poussée est de

courte durée, puisque le retour à la normale qui s'est amorcé le soir (40°) est constaté dès le 2 avril au matin (39°). Mais ce répit ne dure pas puisque le 5 avril (huitième jour) la courbe atteint et dépasse 40° (40,4°) ; elle va se maintenir en plateau hyperthermique pendant la presque totalité de la maladie. Ainsi, en avril, depuis le 5, la moyenne est de 40,4° (extrêmes 39,6° une fois, 39,9°, une fois à plus de 40° : 41,2°). La moitié du mois de mai présente le même type de courbe en restant à plus de 40° jusqu'au 17, la moyenne est de 40,5° (extrêmes 39,6°, une fois, 39,8°, une fois à plus de 40° : 41,7°). Mais le 18 mai (cinquante et unième jour), la température est subitement normale à 39,3° et oscille les jours suivants autour de chiffres voisins ou un peu supérieurs. Les 24 et 25, une légère poussée a lieu à 40,1° et 39,9°. Une nouvelle baisse amène la température à 38,8°, le 27 et 38,2° le 28. Le 29, veille de la mort, alors que l'animal semble très mal, la température va faire un clocher final : à 10 heures, nous notons 39,3°, à 17 heures, 40,1° ; à 17 h. 30, 40,4°, puis c'est l'effondrement, à 19 heures, 39,3° et à 21 h. 30, 39°. Le 30, à 8 heures du matin, l'animal est retrouvé mort, froid et en rigidité cadavérique.

Comme nous allons le voir plus loin, cette dernière poussée a coïncidé avec une phase de multiplication intense des parasites dans le sang.

c) *Poids.* — La courbe de poids de ce jeune Lapin est d'abord ascendante au début de la maladie ; en effet de 2500 g. environ le 28 mars, au moment de l'infection, le poids atteint 2700 g. et les dépasse même, allant à 2780 g. le 11 avril, mais dès lors, l'amaigrissement s'amorce ; à partir de ce quatorzième jour de maladie, le poids passe, par exemple, successivement à 2500 le 15, 2400 le 19 et le 26, 2300 le 3 mai, 2100 le 6, 2000 le 15, 1800 le 21, 1700 le 25 et l'effondrement s'accélère encore avec 1610 le 27 et 1510 le 28. A l'autopsie, l'animal pèse 1560 g. C'est donc une perte de 43,8 p. 100 que provoque l'inoculation des parasites et cela en quarante cinq jours environ.

d) *Urine.* — Volume : Durant toute l'évolution de la maladie, le volume urinaire émis quotidiennement reste assez élevé, il n'y eut jamais de rétention et même le 29 mai, au moment où nous l'observions à 17 h. 30, quelques heures avant la mort, nous notions une miction assez abondante, non récoltée.

Les moyennes sont :

Avril	Mai
110 cm³	90 cm³
15 à 240 cm³	15 à 220 cm³

Chlore : Nous n'observons pas de variations importantes dans l'élimination chlorurée. Ainsi, sans oscillations nettes, la moyenne reste à 3,50 g. p. 1000 (extrêmes 0,70 g. à 6,40 g.). En mai toutefois, l'élimination semble s'accroître assez régulièrement, mais sans atteindre des taux anormaux ; ainsi de 2 g. le 8 mai, le taux passe à 3,2 le 9 ; 4,9 le 10 et 4,4 g. le 15 ; 5,6 g. le 16 et le 17 ; 6,8 g. le 18 ; 7,7 g. le 22 et 9,70 g. le 23. Mais il y a une baisse à la pé-

riode agonique à 8,4 g. le 25 ; 5,3 g. le 28 et 5,70 g. le 29, veille de la mort. La présence de sang dans les urines a souvent empêché tout dosage.

Urée : L'élimination uréique est très irrégulière et la courbe est en dents de scie, dont les minimas sont le plus souvent voisins de 10 g. p. 1000 et les sommets autour de 40 g. Les intervalles de clochers sont très variables, quelquefois d'un jour ou deux seulement et la durée des clochers est elle-même très brève.

Il semble toutefois que jusqu'au 15 avril, il n'y ait pas de variations sensibles ; à partir de ce moment, on voit de brusques clochers, par exemple du 16 au 24 avril, les taux varient autour de 45 g. p. 1000 et de 41,10 g. encore le 24 (pour 85 cm^3 d'urine), le 25, il n'y a plus que 9 80 g. p. 1000 (dans 150 cm^3) et 8,20 g. le 26. En mai, la concentration uréique est plus élevée mais variable sans raison apparente. La moyenne passe à 32 g. avec des extrêmes de 11,40 g. à 50,50 g. p. 1000. A la veille de la mort, nous trouvons 46,60 g. p. 1000.

De même que pour le chlore, la présence du sang d'origine hémorragique testiculaire a souvent empêché tout dosage.

Albumine : Les traces d'albumine sont restées infimes jusqu'au 16 avril. Le 17 avril, il y avait floculation et dès lors, les dosages attestent l'albuminurie constante et de plus en plus accentuée. Par exemple, le 18, le dosage par pesée indique 1,04 g. p. 1000, le 24, 1,44 g., le 3 mai, 3 g. et le 8, 3,24 g. A partir du 9, il y a un peu moins d'albumine, mais la quantité va à nouveau augmenter. Par exemple, le 9, il n'y a plus que 0,90 g. et le 10, 0,76 g., mais le 11, 1,15 g. ; les 15 et 16, 1,80 g. ; le 17, 2,50 g. ; le 21, 6,20 g. et le 28, 5,35 g. Le 29, veille de la mort, l'albuminurie est encore de 1 g. par litre.

Glucose : La recherche de la glycosurie a toujours été négative.

e) *Sang.* — Hématies : L'infection intraveineuse altère très rapidement les hématies ; après quarante-huit heures, simultanément à la poussée thermique, des hématies basophiles voisinent avec quelques très rares hématies nucléées dont le nombre augmente les jours suivants : le 3 avril (sixième jour) le nombre des hématies tombe à 3.880.000 par mm^3, soit une baisse de 44 p. 100. Le 8, il y a 3.770.000 et le 9, 3.840.000. Puis, il se devine une regénération et le 11, alors que les hématies nucléées diminuent et disparaissent, la concentration en hématies remonte à 4.350.000, à 4.750.000 le 17, 5.600.000 le 19. Quelques hématies nucléées réapparaissent le 23 mai, sept jours avant la mort.

Leucocytes : Sans nous être attardé aux numérations (qui ne varient pas sensiblement), nous avons par contre noté des perturbations dans la formule leucocytaire. Confirmant l'observation précédente, une crise *monocytaire* précoce se manifeste, soixante douze heures après l'infection ; le pourcentage des monocytes passe de 5,2 p. 100 à 11,3 p. 100. Cette poussée est de courte durée puisqu'encore à 11,3 p. 100 le 1er avril, elle tombe à 7 p. 100 le 2 et à

2,5 le 3. Une seconde crise porte le p. 100 de 2,6 le 6 avril à 10,4 p. 100 le 10 ; encore une fois, la baisse est rapide, à 7,2 le 11, 9,3 le 12, 3,6 le 13, 4 le 15 et jusqu'à la mort, nous n'observons plus de crise et la formule indique quarante-huit heures avant la mort, 3,5 p. 100.

Les *polynucléaires neutrophiles*, par contre, marquent une nette diminution relative qui va de 50 p. 100 progressivement à 13,3 p. 100 le 3 avril, puis le pourcentage s'élève à nouveau et après 20,7 p. 100 le 4, 27,3 p. 100 le 5, 30 p. 100 le 6 et 51 p. 100 le 10, nous retrouvons le taux habituel. Toutefois, à la fin de la maladie, nous constatons une polynucléose neutrophile relative considérable : le 14 mai, nous trouvons 62,4 p. 100, le 23, 77,1 p. 100 et le 28, 90,1 p. 100 quarante-huit heures avant la constatation de la mort.

Les *polynucléaires éosinophiles* ont tendance à diminuer, voire même à disparaître (neuf fois nous n'en trouvons pas sur vingt-cinq formules).

Les *polynucléaires basophiles*, par contre, augmentent relativement, au début de la maladie, jusqu'à atteindre 25,6 p. 100 le 5 avril (huitième jour), puis ils regressent et se stabilisent au taux normal, jusqu'à la mort.

Pouvoir infectant : La recherche des parasites dans le sang circulant périphérique s'est révélée positive pendant trois périodes. Une apparition précoce se manifeste dès le 30 avril (quarante huit heures après l'inoculation) où nous en comptons jusqu'à 10,1 p. 100 leucocytes, au moment même de la crise monocytaire et de la poussée hyperthermique. Ces trypanosomes forment presque tous des figures de division dans lesquelles coexistent dans un protoplasma unique quatre noyaux et quatre blépharoplastes d'où partent quatre flagelles déjà nettement distincts. Mais rapidement, les parasites échappent à l'examen et dès le 31, il n'en paraît plus. Le 5 avril (huitième jour) survient une nouvelle septicémie, cette fois plus faible en intensité, mais plus prolongée ; de 1,5 p. 100 leucocytes, leur rapport aux éléments blancs faiblit à 0,8 p. 100 le 11, 0,3 le 12, 0,2 le 15 et alors, nous n'en trouvons plus jusqu'à la troisième invasion sanguine à la période agonique. Alors que le 23 mai, nous n'en trouvons pas, le 28 une numération directe nous fournit le chiffre de 4.000 au mm³ à 11 heures. Le 29, ce chiffre augmente brutalement à 45.000 à 10 heures, puis 104.000 à 17 heures et 160.000 à 17 h. 30. Rappelons que l'animal est retrouvé mort le lendemain matin.

Le 6 mai, nous avons passé à deux souris, par voie sous-cutanée 0,75 cm³ de sang prélevé à la veine marginale de l'oreille. Le 10, toutes deux sont infectées et le 13, meurent en pleine trypanémie.

Le 16 avril nous avons fait une recherche du pouvoir d'agglutination du sang sur le virus homologue ; elle s'est avérée positive aux deux dilutions de 1/10 et 1/100.

Glycémie : Durant la maladie, les quelques dosages de glucose sanguin ont indiqué des chiffres voisins de la normale ou quelque peu supérieurs. Par exemple, 1,42 g. p. 1000 le 12 avril, 1,03 g. le 25 avril, 1,30 g. le 8 mai, etc... Toutefois, à la phase agonique et

d'infection trypanosomique, la glycémie tombe à 0,75 g. p. 1000 le 29 à 10 heures du matin. (La mort est constatée le lendemain matin).

Autopsie : L'autopsie a confirmé la perte du testicule droit ; d'autre part, il y avait un fongus testiculaire gauche très important.

Lapin n° 33 — Expérience n° 52 — 12 octobre 1946.

Infection. — Le 12 octobre 1946, ce Lapin mâle de 2700 g. reçoit sous la peau, deux millions de *T. equiperdum.*

Maladie. — a) *Signes externes.* — Après neuf jours d'incubation, le 21 octobre apparaît le premier signe d'altération sous forme d'un léger œdème de l'angle antérieur de l'œil gauche. Les jours suivants, celui-ci s'accentue et le 24, un écoulement mucopurulent suinte de l'angle antérieur. Cette suppuration se développe rapidement. Les organes génitaux sont ensuite touchés et le 14 novembre, un œdème atteint l'enveloppe testiculaire gauche. Les lésions oculaires s'accentuent en même temps et la conjonctivite est bilatérale le 20 novembre accompagnée d'un début de dépilation périoculaire. Cette dernière s'étend et atteint le museau. Le 28 novembre, une plaque d'œdème se forme à la base de l'oreille gauche tandis que se sclérose la bourse gauche. Au début de décembre, les altérations génitales s'accentuent et il se forme de petites escarres sanguinolentes sur les bourses.

La dépilation du museau s'étend et celui-ci porte de multiples croutes qui se détachent et, ce faisant, laissent suinter un peu de liquide sanguinolent ; tout le museau est congestionné. Sur le dos apparaît une escarre circulaire sèche sur laquelle les poils tombent. Après une aggravation légère de tous ces symptômes, l'animal meurt, l'œil gauche totalement obturé par le pus et la bourse gauche tout à fait durcie, le 12 janvier, quatre-vingt-douze jours après l'inoculation parasitaire.

b) *Température.* — Dès le quatrième jour, une poussée subite porte la température à 40° le 16, 40°7 le 17 et 41°2 le 18. Le 19, la baisse s'amorce à 40°1 et le 21, nous retrouvons la température normale à 39°2. Mais ce répit est de courte durée puisque dès le 22, l'hyperthermie réapparaît à 40°3 et dès lors, la température se maintient en plateau, sans rémission, à plus de 40°. Toutefois, à la fin de la maladie, la courbe est irrégulière.

c) *Poids.* — Le début de la maladie n'empêche pas le développement pondéral et ainsi le poids atteint 3.000 grammes le 14 novembre. Ensuite, il y a amaigrissement progressif qui fait tomber le poids à 2.400 grammes le 8 janvier et à 2.140 g. au moment de la mort.

d) *Sang.* — La recherche des parasites dans le sang a été pratiquée au début de la maladie. Le 17 octobre (cinquième jour) nous trouvons un trypanosome. Ensuite, il faut attendre le 25 et le 26 pour en retrouver, puis le 12 novembre. Ceux-ci sont très rares,

puisque comparés aux globules blancs, il faut sur frottis en compter respectivement 220, 400, 660 et 230 pour trouver un seul parasite.

L'observation des éléments blancs du sang montre une notable augmentation relative des monocytes. De 1,2 p. 100, ils passent à 2,8 p. 100 au moment où nous repérons le premier parasite (cinquième jour) et à 13,6 p. 100 le lendemain. Les jours suivants, il y a un léger répit (12,7 ; 7,4 p. 100). Une nouvelle crise s'amorce le 22 (9,4 p. 100) qui croît les jours suivants jusqu'à 17,1 p. 100 le 26 octobre. Puis une baisse se déclenche à 12.2 le 28, 10 le 29 et 3,4 p. 100 le 30. Ensuite, le taux remonte un peu et se maintient entre 6 et 8 p. 100 environ.

3° Conclusions générales sur la trypanosomose a *T. equiperdum* du Lapin.

La dourine du Lapin affecte surtout les organes génitaux et la tête de l'animal. La fonte testiculaire et la desquamation sanguinolente font suite à une série d'œdèmes des enveloppes des testicules, des zones périorbitaires, du museau et de la base des oreilles. Quelquefois, les lésions vont jusqu'à l'éventration testiculaire, du paraphimosis et la suppuration oculaire jusqu'à l'obturation totale de l'œil avec blépharite, conjonctivite mucopurulente et quelquefois pétéchies. Des troubles nerveux sont rendus manifestes par de la parésie du train postérieur, allant quelquefois jusqu'à la paralysie totale de tout l'arrière-train. La splénomégalie est constante.

Le début de la maladie n'altère pas le développement de l'animal, mais à la mort, il y a cachexie souvent très prononcée.

La courbe de température que nous avons toujours trouvée typique nous paraît importante. Après un clocher précoce et une rémission très courte, la température atteint un niveau supérieur à 40° et l'hyperthermie se maintient d'une manière à peu près constante jusqu'aux derniers jours de la maladie où la courbe est désordonnée. La mort survient en hypothermie.

L'observation sanguine nous a montré combien le diagnostic de la trypanosomose est difficile par la simple recherche des parasites. Il semble n'y avoir jamais que de très rares parasites dans le sang circulant, plus facilement décelables tout au début de l'infection et quelquefois à la mort où ils se multiplient activement

Par contre, les trypanosomoses sont, en général, décelables dans les œdèmes cutanés.

De l'étude sanguine, il nous a paru intéressant de noter la crise monocytaire précoce de tous les animaux que nous avons pu suivre.

Quant à l'évolution totale de la maladie, elle est très variable et nous avons trouvé de cinquante-six à quatre-vingt-quinze jours.

Quant au métabolisme des Lapins dourinés, la note prédominante est *l'albuminurie* qui apparaît dans la seconde moitié de la maladie et une hypoglycémie agonique, donc non spécifique.

II.

ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE EXPÉRIMENTALE A *TRYPANOSOMA BRUCEI.*

A) Etude sur le Cobaye.

La maladie du Cobaye, infecté par *T. brucei,* est très différente suivant la souche que nous utilisons et dont nous avons étudié précédemment la morphologie.

Souche Institut Pasteur. — Les Cobayes qui reçoivent par voie intrapéritonéale, une suspension de deux millions de *T. brucei* venant de la Souris, prennent l'infection ; la durée d'incubation semble de trois jours environ ; l'apparition des parasites dans le sang s'accompagne d'une forte poussée d'hyperthermie à plus de 40°. Mais en trois ou quatre jours, il y a lyse, blanchiment spontané et retour à une température normale. Exceptionnellement, une seconde poussée parasitaire a lieu mais qui rétrocède en quelques jours ; les animaux guérissent et nous n'observons pas de rechute pour des observations de cent jours.

Il n'y a pas de perte de poids.

Souche anglaise. — Une infection équivalente dans les mêmes conditions expérimentales tue le Cobaye. La période d'incubation est de deux à trois jours et la crise septicémique s'accompagne aussi d'un clocher thermique à plus de 40°. Une crise lytique de très courte durée suit, mais la septicémie s'installe à nouveau et les animaux meurent. Les trois Cobayes étudiés sont morts respectivement en vingt-deux, vingt-sept et trente-trois jours, sans perte de poids.

Conclusion. — La maladie, chez le Cobaye, provoquée par un même virus (*T. brucei*) mais de souches différentes, con-

duit pour l'une à la mort, pour l'autre à une guérison spontanée malgré une crise d'infection précoce.

Curasson (l. c.) pour sa part, indique une incubation de deux à sept jours pour une maladie moyenne de trente-cinq jours (quinze à cent quatre-vingt-trois jours), marquée de poussées trypanémiques et de lyses ainsi que des lésions locales, conjonctivite, dépilation, œdème du fourreau ou de la vulve. Pour Gowe [64], il y a bouleversement précoce dans le nombre et la répartition relative des éléments blancs, dont le début précède l'apparition des premiers parasites dans le sang. En plus d'une leucocytose précoce se manifeste une forte monocytose. Il provoque également cette monocytose précoce par injection intra-veineuse d'antigène par des corps de *T. brucei* tués. Pour notre part, nous rappelons que nous avions noté cette monocytose précoce chez le Cobaye et le Lapin infectés par *T. equiperdum*.

B) Etude sur les Rats et Souris.

La différence entre les deux souches est moins nette chez le Rat et l'inoculation sous-cutanée est mortelle à 100 p. 100 en septicémie aiguë.

Souche Institut Pasteur. — La maladie est suraiguë et aboutit à la mort en une semaine environ. (Moyenne sept jours et demi pour vingt-six Rats). Les extrêmes sont de quatre à quatorze jours.

Pour les maladies dont la période d'état est la plus longue on constate quelquefois une crise lytique intermédiaire entre la fin de l'incubation (deuxième à quatrième jour) et la septicémie terminale.

On n'observe pas de perte sensible de poids.

Souche anglaise. — La durée moyenne de la maladie est un peu plus longue (neuf jours pour dix Rats). Les extrêmes sont de cinq à quinze jours. Mais la prolongation de survie ne semble pas attribuable à une crise lytique ; en effet, les parasites sont présents dès la fin de l'incubation (deux à quatre jours) jusqu'à la mort, de façon permanente et abondante.

Il semble y avoir un amaigrissement marqué.

Les deux souches, inoculées par voie sous-cutanée, tuent rapidement la Souris après une maladie suraiguë de quatre jours environ.

Pour Kanthack, Durham et Blandford [65] la maladie s'étend sur six à vingt-six jours (moyenne douze) pour le Rat et huit à quinze (moyenne treize) pour la Souris. Laveran et Mesnil (l. c.) fixent la moyenne de trois jours et demi à cinq jours. Il semble que les différences viennent de la date de fixation du virus. Généralement, les auteurs n'observent pas de symptômes externes importants, ni même d'hyperthermie. M. Dauzier [66] confirmant les essais de Graham et Hutchinson [67] ne trouve pas dans la tempé-

rature un élément clinique à retenir. Elmassian [68] note de l'hypertrophie constante des capsules surrénales et HU [69] chez le Rat, de l'hyperplasie lymphoblastique de la rate et des ganglions. Quant à la trypanémie, les divergences persistent. Pour Curasson (l. c.), la mort du Rat ne survient qu'en vingt-deux jours, après que les parasites eussent été très rares, sauf au moment de la mort. Pour d'autres, les parasites augmentent régulièrement tandis que HU (l. c.) dit que ce n'est vrai que pour une maladie de cinq à six jours. Si la maladie atteint huit à neuf jours, il y a d'abord une augmentation graduelle, puis une crise lytique rapide et une rechute de courte durée avant la mort.

III.

ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE EXPÉRIMENTALE A *TRYPANOSOMA EVANSI.*

a) Cobaye.

L'inoculation sous-cutanée de notre souche de *T. evansi* tue le Cobaye régulièrement. La durée d'incubation est de cinq à six jours, les parasites se développent activement et la mort survient en pleine septicémie en moins d'un mois. Exemple : Cobaye n° 97 = vingt-huit jours. Il n'y a pas d'amaigrissement sensible. Laveran et Mesnil (l. c.) donnent une moyenne de trente-quatre jours. Knowles et Das Gupta [70] indiquent les limites de quarante et quatre-vingt-dix jours et voient guérir deux animaux sur trois. Launoy et Lagodsky (l. c.) sur une variété de *T. evansi, T. annamense* observent une diminution et même la disparition des éléments à corps de Kürloff. Lagodsky (l. c.) note une hyperglobulie initiale, puis une hypoglobulie peu précoce avec des périodes brèves de réparation numérique. Il y a des normoblastes, des hématies ponctuées, anisocytiques et polychromatophiles ; avant le dixième jour s'installe une leucopénie permanente avec mononucléose permanente ou intermittente.

b) Rat et Souris.

Le Rat, inoculé par voie sous-cutanée, meurt après une crise suraiguë avec une moyenne de huit jours (pour huit Rats).

La Souris fait également avec notre virus une maladie suraiguë d'environ quatre jours. Knowles et Das Gupta (l. c.) ont vu le Rat blanc succomber en soixante heures après inoculation intrapéritonéale.

c) Lapin.

Des expériences au Laboratoire sur le Lapin avaient indiqué la ligne générale de la maladie.

a) *Deux Lapins, infectés par voie sous-cutanée* avaient montré l'un des parasites dans son sang en sept jours, l'autre une résistance apparente car on n'a jamais trouvé de parasites.

Tous deux cependant succombent respectivement en quarante-sept et trente-cinq jours, sans perte de poids appréciable. La température présente quelques clochers, dont un précoce, à l'apparition des parasites chez l'un (le septième jour), chez l'autre, le cinquième jour. Des périodes de répit et de poussées se succèdent irrégulièrement, sans rapport apparent avec la septicémie. Les signes cliniques externes sont constitués surtout d'œdèmes des oreilles, des paupières, du museau et des organes génitaux. Enfin, on observe de l'albuminurie.

b) *Deux Lapins infectés par voie intraveineuse* présentent une période d'incubation plus courte (vingt-quatre heures et deux jours). Des crises lytiques et de réinfection se succèdent jusqu'à la mort qui survient respectivement les vingt-neuf et vingt-quatrième jours, après une perte de poids prononcée chez un seul des deux. La température est irrégulière avec cependant un clocher précoce, respectivement les cinquième et deuxième jours. Ls signes cliniques semblables à ceux des animaux infectés par voie sous-cutanée apparaissent dans ces deux cas les onzième et septième jours. L'albuminurie existe également et atteint même 3,25 g. p. 1.000 chez le premier au moment de la mort.

Voici l'observation plus détaillée d'un Lapin que nous avons suivi comme ceux infectés par *T. equiperdum*.

Lapin n° 2. — Expérience n° 5. — 10 janvier 1946.

Mise en observation : le 10 janvier 1946, nous mettons en observation, dans les conditions habituelles, un Lapin mâle. Les données moyennes de la période d'observation sont les suivantes :

Poids en grammes	Température rectale	Volume urinaire cm³/24 h.	Cl Na g. p. 1000	Urée g. p. 1000	Albumine urinaire	Glycémie g. p. 1000
2685	39°2	240	4,85	6,85	0	1,08
2580 à 2750	38°7 à 39°5	210 à 260	2,80 à 7,10	5,20 à 9,20		

Infection. — Le 21 janvier, nous injectons dans la veine marginale de l'oreille gauche une suspension d'un million de *T. evansi* provenant d'une Souris.

Maladie. — a) *Lésions cutanées :* Pendant les neuf premiers jours, rien ne se manifeste d'anormal. Le dixième jour, le 31, les premiers symptômes inflammatoires se localisent sur l'œil droit, où l'on note de la conjonctivite avec un léger œdème susorbitaire.

Le surlendemain, l'autre œil est atteint, l'inflammation s'aggrave et l'on note du chemosis, puis de la conjonctivite muco-purulente. Le 4 février, (quatorzième jour) le fourreau paraît légèrement œdématié, il y a du jetage des narines.

Dès le lendemain, le fourreau s'escarrifie et les testicules sont douloureux ; le 8 (dix-huitième jour) les bourses sont œdématiées à leur tour et une ponction de cet œdème fournit un liquide transparent où pullulent les parasites. Le 9, nous observons en plus de l'aggravation des symptômes précédents une faiblesse du train postérieur. Le 12 (vingt-deuxième jour) il se produit une déchirure de l'enveloppe testiculaire gauche avec hémorragies et il se forme une saillie de l'épididyme. Le lendemain, l'état général faiblit, l'animal marque de l'asthénie et une dépression de plus en plus accentuée, les yeux sont clos et l'animal tremble. Quelques soubresauts précèdent la mort le 14 février (vingt-quatrième jour).

b) *Température.* — Après quelques jours de température normale, une poussée subite se manifeste le dixième jour (31 janvier) à 40°8 et jusqu'à la mort, la température reste élevée. La température agonique des dernières quarante-huit heures n'a toutefois pas été prise. Jusque là, la moyenne est de 40°7 (extrêmes 40°4 à 41°1).

c) *Poids.* — Durant la presque totalité de la maladie, le poids ne varie pas sensiblement et la pesée du 12 février accuse encore 2.720 grammes. Mais la baisse devient brutale à 2.460 grammes le 13 et à 2.400 le 14.

d) *Urine.* — Le volume quotidien d'urine émise reste élevé jusqu'à la période agonique. Jusqu'au 12 février (180 cm³) la moyenne reste à 190 cm³ (100 cm³ à 270 cm³). Mais le 13, nous ne recueillons que 35 cm³ et le 14, 30 cm³. A l'autopsie immédiate, la vessie est vide. Il y a donc une tendance à l'oligurie terminale.

Chlore. — Il semble y avoir une rétention chlorurée précoce qui fait tomber progressivement le taux de chlorure à 1,10 p. 1.000 le 1er février. A ce moment s'amorce le déblocage et l'élimination ira croissant.

Urée. — Au cours de la maladie, l'élimination uréique augmente régulièrement jusqu'à la mort, passant par exemple à 9,90 p. 1.000 le 26 janvier ; 14 g. le 1er février ; 18,10 g. le 5 ; une légère diminution autour de 10 grammes les 6, 7 et 8 précède le chiffre de 18 g. le 12. Le sang des hémorragies testiculaires empêche, comme pour le chlore, tout dosage les 13 et 14 février.

Albumine. — L'albuminurie fait son apparition le 5 février (quinzième jour) mais jusqu'à la dernière recherche le 12, nous ne trouvons que des quantités non dosables.

Sédiments urinaires. — Les sédiments urinaires sont surtout constitués dans cette urine alcaline (comme l'est celle de tous les Lapins) de carbonate de calcium en très grande quantité et de phosphate ammoniaco-magnésien. Le 12 février, au moment de l'éventration testiculaire, on trouve de nombreux spermatozoïdes, immobiles au moment de l'examen.

e) *Glycémie.* — Le 6 février, une légère hyperglycémie se manifeste à 1,45 g. p. 1.000 ; mais la période agonique est marquée par une hypoglycémie prémortelle profonde. Le 14 février à 10 heures, la glycémie n'est plus qu'à 0,33 g. p. 1000 et à 14 heures, le taux tombe encore un peu, à 0,30 g. p. 1.000. La mort survient une heure après.

Autopsie. — A l'autopsie pratiquée aussitôt après la mort, la vessie est vide. L'éventration n'a pas atteint le côté droit et le testicule droit seul subsistant paraît normal. L'intestin est normal, le duodénum est toutefois fortement pigmenté par une décharge biliaire récente ; la vésicule biliaire est très dilatée, le foie est de bonne consistance, gorgé de sang non coagulé ; la couleur du tissu hépatique est altérée et a viré à l'ocre foncé. Les reins sont décolorés, exsangues, assez fermes et entourés d'une épaisse masse graisseuse. Dans la cage thoracique, les poumons sont exsangues ; on ne trouve pas de sérosité péricardique notable, la trace de liquide obtenue ne présente pas de trypanosomes, mais seulement quelques leucocytes. Une ponction du quatrième ventricule n'a fourni que quelques gouttes de L.C.R. contenant quelques hématies, des leucocytes, mais pas de parasites.

Conclusions. — L'injection intra-veineuse d'un million de *T. evansi* est mortelle en vingt-quatre jours pour ce Lapin mâle, après des lésions oculaires et génitales comportant la perte d'un testicule. La température à partir de la moitié de la maladie est à plus de 40°. La période agonique est marquée par un léger amaigrissement, une tendance à l'oligurie et une augmentation d'élimination d'urée. L'albuminurie se manifeste à partir de la mi-maladie. La glycémie s'effondre quelques heures avant la mort.

CHAPITRE IV.

ETUDE DE LA THÉRAPEUTIQUE CURATIVE DES TRYPANOSOMOSES EXPÉRIMENTALES PAR LE DIAMIDINODIPHÉNOXYPENTANE.

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE DE L'ACTIVITÉ CURATIVE DES DIAMIDINES.

Dans l'étude de la trypanosomose, on savait depuis longtemps que le métabolisme hydrocarboné des hôtes parasités est altéré, qu'une hypoglycémie apparaît, surtout comme phénomène final et que les trypanosomes sont très sensibles à une baisse de concentration en glucose du milieu dans lequel ils vivent.

Les premières observations sur le rôle du glucose semblent être celles de Biot C., Biot R. et Richard [71] montrant que la vie de *T. lewisi* est prolongée in vitro par addition de glucose et celles de Fleig [72] observant le même phénomène sur *T. brucei*. Schern [73 à 74] confirmant les observations de Laveran et Mesnil (l. c.) rend la mobilité à des trypanosomes par addition de sérum ou d'extrait de foie, de Rat ou de Cheval sains et plus tard, attribue au glucose ce rôle de réanimation et de prolongation de vie des trypanosomes. En 1929, Yorke, Adams et Murgatroyd [75] précisent que le glucose dans les cultures à 37° est essentiel et que sa consommation est énorme (quatre cent millions de parasites catabolisent 12 à 12,5 mg. de glucose en cinq heures. Schern [76], Scheff et Hassko (1932) [77], Zotta et Radacovici (1929) [78 et 80], Mlle Cordier (1927) [81], Dubois et Bouckaert (1927) [82], Geiger, Kliger et Comaroff [83] en 1930, Regendanz la même année [84 à 85], Jancso [86] en 1935, Christophers et Fulton [87] en 1938, etc... confirment ces observations sur les différents virus *T. rhodesiense, T. evansi, T. congolense, T. brucei.* Jancso N. et Jancso H. (l. c.) travaillant sur le 205 B (309 F, Germanine, Moranyl)

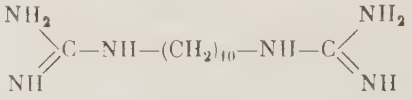
pensèrent qu'il y aurait peut-être lieu de chercher un rapport entre le métabolisme carboné des trypanosomes, leur forte consommation de glucose in vitro et l'hypoglycémie des hôtes parasités. Aussi donnent-ils des substances hypoglycémiantes et entreprennent-ils leurs recherches avec des dérivés de la guanidine, sur la Souris infectée par *T. brucei* (Synthaline, Synthaline B., monoguanidine, thioguanidine). Seule la synthaline montre une activité trypanocide, les autres corps n'en ont que peu et les auteurs concluent à l'action indirecte de la synthaline par hypoglycémie continue.

Indépendamment de ces recherches, un autre rapport paraît, de Schern et Artagaveytia-Allende [88 à 89]. Ces auteurs cherchent également à influencer les infections à trypanosomes par des substances hypoglycémiantes, mais le phosphore, la phloridzine, l'uréthane et l'insuline n'ont pas d'action sur *T. equinum* chez le Rat. Par contre, la synthaline agit, non seulement sur *T. equinum* mais aussi sur *Treponema hispanicum* ; et ces deux auteurs concluent que l'action thérapeutique de la synthaline n'est pas seulement due au fait qu'elle provoque de l'hypoglycémie mais qu'elle a une action toxique directe sur le parasite.

Après ces premiers résultats, il revenait à Lourie et Yorke [90 à 91] de poser pour juste et de vérifier l'idée de l'action trypanocide directe de la synthaline, puis d'autres corps. Ils estiment d'abord improbable que le degré d'hypoglycémie compatible avec la vie de l'hote soit suffisant pour affecter le cours de la trypanosomose ; dans leurs propres expériences, la synthaline agit pourtant à 0,75 g. par 20 g. de Souris infectée par *T. equiperdum* et des doses répétées peuvent guérir une certaine proportion de Souris. Pour prouver l'action directe ou non du produit, ils l'étudient *in vitro*. Dans un milieu nutritif à 37° C la synthaline a une action trypanocide du même ordre que celui des arsenicaux aromatiques trivalents ; une concentration de 1/262.000.000 suffit à détruire pratiquement en vingt-quatre heures tous les trypanosomes. D'autre part, la synthaline ne provoque un degré prononcé d'hypoglycémie chez un animal normal qu'à des doses qui lèsent la cellule hépatique. Enfin, l'insuline n'exerce pas d'activité trypanocide sensible ni *in vivo*, ni *in vitro* (1/16.000).

Les conclusions qui s'imposaient dès lors étaient celles de l'action directe et cette découverte ouvrait un nouveau champ immense de recherches. Aucune action semblable n'avait ja-

mais été observée avec aucun composé apparenté dans sa structure chimique avec la synthaline qui consiste, comme le montre la formule, en deux groupes guanidine, reliés par une chaîne aliphatique.



La notion d'action directe une fois prouvée, les observations furent étendues à Liverpool par King, Lourie et Yorke et leurs collaborateurs [90 à 91] à un très grand nombre de dérivés ; tous les corps préparés et essayés comportent une chaîne carbonée centrale et un ou deux groupes terminaux basiques. Dans le nombre énorme de dérivés, guanidines, isothiourées, amidines, amines à chaînes aliphatiques ou aromatiques, saturées ou non, ceux contenant le groupe amidine retinrent l'attention et spécialement les diamidines. Par exemple, l'undecane I-II diamidine guérit à près de 100 p. 100 les trypanosomoses de la Souris et du Lapin infectés par *T. rhodesiense*. De plus, donnée à forte dose le jour de l'inoculation et les neuf jours suivants, il y a une nette action prophylactique. Mais ce dérivé n'agit pas sur *T. cruzi*, ni sur *Spirocheta recurrentis*.

Browning [92] confirme de son côté l'effet chimiothérapique de la synthaline chez la Souris, infectée cette fois par *T. brucei* et *T. congolense* (mais ici avec rechute). Cet auteur précise également que les souches arseno-résistantes ou non sont également sensibles.

Avec King, puis Ewins, Lourie et Yorke [93] continuèrent leurs études dans ce vaste champ de recherches. Ewins prépara de nouveaux corps en incluant dans la chaîne médiane un cycle benzénique. Ces aryl-dérivés furent essayés tant *in vitro* qu'*in vivo* (Hawking) [94] et les plus intéressants furent des aryldiamidines dont les 4-4'diamidino-stilbène, 4-4' diamidino-diphénoxypropane, 4-4'diamidino-diphénoxypentane. Mais ces produits furent décevants pour *T. congolense* (Daubney et Hudson) [95] et inutiles dans les infections à *T. cruzi*, *Spirocheta recurrentis* ou *Spirillum minus*. Par contre, Adler et Tchernomoretz [96 à 99] mirent en évidence l'activité curative des dérivés diamidinés du stilbène, puis du propane et du pentane sur les infections à *Leishmania* du *hamster* et sur diverses piroplasmoses. Après Lourie et Yorke (l. c.) Carmicha-

EL seul [100] et avec FIENNES [101] confirma les conclusions de ceux-ci sur les diamidines aromatiques et spécialement du 4-4'diamidinodiphénylether sur *Babesia canis*.

ADAMS et YORKE [102] passèrent aux essais sur l'Homme et expérimentèrent le dérivé du stilbène dans le Kala-azar du Chien ; puis ADLER et RACHMILEWITZ [103] dans le Kala-azar méditerranéen. ADAMS [104] essaie le dérivé du pentane, puis KIRK et SATI [105] expérimentent les trois diamidines dérivées du stilbène, du propane et du pentane sur le Kala-azar du Soudan, avec succès.

Puis les diamidines furent utilisées dans les trypanosomiases humaines par de nombreux auteurs dont Mac LETCHIE [106], HARDING [107], BOWESMAN [108], SAUNDERS [109] etc...

Dès lors, l'essor de ces médicaments allait croissant dans la thérapeutique de diverses maladies, y compris l'action antibactérienne en pleine étude actuelle et ils prenaient un rang de tout premier ordre.

⁂

ÉTUDE DU DIAMIDINODIPHÉNOXYPENTANE.

1° Action curative sur *Trypanosoma equiperdum*.

Les premières expériences sur *T. equiperdum* de dérivés organiques voisins de cette série semblent être celles de LOURIE et YORKE (l. c.) en 1937 qui employèrent la synthaline. Depuis, les mêmes auteurs (déc. 1939) et de nombreux autres parmi lesquels nous avons indiqué des références, ont introduit dans le domaine expérimental et thérapeutique des diamidines et plus spécialement le 4.4' diamidinodiphénoxypentane. Pour notre part, nous en avons recherché l'effet curatif au laboratoire chez le Cobaye, le Lapin, le Rat, et la Souris. Nous avons recherché s'il y avait une variation sensible dans l'activité des doses thérapeutiques, en fonction de la date de la maladie expérimentale.

a) DU COBAYE.

Nos expériences ont porté sur des Cobayes mâles infectés par voie sous-cutanée, par des quantités massives (six millions) et sévères (un million) de *T. equiperdum* prélevé chez la Souris.

1° *Infections massives et traitement précoce.*

Troisième jour : Expérience n° 12, 26 avril 1946.

Infection : Le 26 avril 1946 nous infectons, sous la peau, dix Cobayes n°s 1 à 10, pesant de 220 à 385 grammes, avec une masse infectante de *six millions* de *T. equiperdum*.

Les Cobayes n°s 2, 9, 10 sont conservés comme témoins; nous en avons décrit le devenir au cours de nos observations sur la maladie du Cobaye. Rappelons simplement que la période d'incubation est de trois jours et qu'ils meurent respectivement en quarante-six, quarante-sept et trente-huit jours.

Traitement. — Le 29 avril (troisième jour), les Cobayes présentent des parasites dans leur sang périphérique; les sept animaux à traiter reçoivent alors, par voie sous-cutanée une solution à 1 p. 1000 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane aux doses respectives de :

Pour cent grammes de poids	N°s 1	0,000.25 g.
	3, 8	0,000.50 g.
	4, 5	0,001.00 g.
	6, 7	0,001.50 g.

Aucune réaction apparente ne suit l'injection curative.

0,000.25 g. p. 100. Cobaye n° 1.

Le lendemain de l'injection thérapeutique, le sang présente encore quelques très rares parasites (1 par 20 champs : oculaire 3 objectif 5, Nachet) et le 1er mai (quarante-huit heures après traitement) l'animal paraît blanchi. Le 13 mai (quatorzième jour), quelques très rares parasites de rechute apparaissent dans le sang périphérique (moins de 100/mm³); le 14 et le 15, nous n'en trouvons plus, mais le 16, la rechute se confirme et atteint 22.600/mm³ le 20 mai. Un blanchiment de deux jours précède une troisième rechute de trois jours, allant jusqu'à 16.000/mm³. Un nouveau blanchiment fait suite et y succède une quatrième rechute plus forte et plus longue, de onze jours, allant jusqu'à 56.000/mm³. Une nouvelle crise lytique conduit à un nouveau blanchiment et la trypanémie (cinquième rechute) subitement remonte et atteint 244.000 le 11 juin et 320.000 le 12. Une crise s'amorce et après 164.000 le 13, 26.000 le 14, moins de 1000 le 17 et le 18, blanchit le sang le 19. Mais dès le 20 juin, les parasites réapparaissent (sixième rechute) et l'infection sanguine croît régulièrement; par exemple : 5.000/mm³ le 24 ; 19.000 le 25 ; 40.000 le 26 ; 60.000 le 29 ; 144.000 le 1er juillet ; 192.000 le 2. Une légère diminution entre 50.000 et 100.000, pendant trois jours, précède une forte poussée à 336.000 le 6 juillet. Une ultime crise lytique s'amorce encore et blanchit le sang le 10. Enfin, une dernière poussée parasitaire, la septième, s'amorce et le taux d'infection croît progressivement jusqu'à la mort le 3 août, avec 198.000/mm³, quatre-vingt seize jours après le traitement.

La courbe de température est très irrégulière durant la presque

totalité de la maladie. On remarque de temps à autre, une légère poussée sans lendemain au voisinage des acmés trypanémiques : Ex. : 39°7 le 13 juin (164.000); 39°9 le 2 juillet (192.000); 39°8 le 19 juillet (144.000); 40°2 le 31 juillet (180.000). A la période agonique la température s'effondre et de 40°2 le 31 juillet, passe successivement à 39° le 1er août, 37°9 le 2 et 35°3 le 3; l'animal est alors en décubitus latéral et est sujet à des crises toniques des pattes, il meurt dans la nuit.

Le poids ne cesse de croître presque jusqu'à la fin de la maladie ; de 280 g. le 25 avril, il passe à 385 le 16 juillet (soixante-dix huitième jour après traitement). Dès lors, il baisse, entre autres, à 340 g. le 19, 335 le 29 ; 325 le 2 août et 280 le jour de la mort, ayant perdu 105 grammes sur 385 en dix-huit jours.

La recherche du pouvoir infectant du sang est faite le 26 juillet. Une effilée de pipette Pasteur de sang prélevé à l'oreille et tenant 72.000 parasites/mm³ est inoculée, par voie sous-cutanée, à une Souris. Le 29 (troisième jour) nous repérons quelques rares parasites et le 1er août (sixième jour), elle meurt grouillante de parasites. Ainsi, les Trypanosomes du Cobaye sont non seulement mobiles, mais virulents.

0,0005 g. p. 100, Cobaye n° 3.

Traité comme le précédent trois jours après l'infection, alors que le sang présente quelques parasites (moins de 1000/mm³), ce Cobaye de 315 g. n'a plus le lendemain que de très rares trypans (1/20 champs) et quarante-huit heures après l'injection, l'animal est blanchi et le reste jusqu'au 28 mai. Le 29 (trentième jour après traitement) il rechute (moins de 1000/mm³) ; la poussée infectante est faible, au maximum 6000/mm³ le 31 mai. Une crise lytique se déclare et amène le blanchiment le 7 juin. Une seconde rechute, quatre jours après, un peu plus forte, porte le nombre des parasites à 28.000 le 14 juin et après une baisse s'étalant de moins de 1.000 à 20.000/mm³, une troisième poussée plus élevée à 74.000 est atteinte le 12 juillet. Une nouvelle crise s'étend jusqu'au 5 août avec une trypanémie moyenne inférieure à 5.000/mm³. Le 6 août, on ne trouve plus de parasites et ainsi, jusqu'au 16 août inclus et le 19, l'animal est retrouvé mort, cent douze jours après traitement.

La courbe thermique est désordonnée et si elle présente quelques clochers, 39°9 le 22 mai (pas de parasites) ; 40°3 le 3 mai (6.000) ; 40°2 le 25 juin (moins de 1.000) ; 40°1 le 8 juillet (8.000) ceux-ci ne correspondent pas systématiquement à une phase constante de l'infection (poussée ou crise).

Le poids ne cesse de croître très régulièrement durant la presque totalité de la maladie, passant de 315 g. le 25 avril à 560 g. le 31 juillet. A ce moment, semble s'amorcer un amaigrissement léger qui n'a pu être suivi par nous pendant les derniers jours.

Le pouvoir infectant du sang s'est révélé dès avant la rechute apparente ; le 27 mai (vingt-huitième jour du traitement), 0.35 cm³ de sang cardiaque est inoculé par voie sous-cutanée à une Souris ; le 1er juin, elle présente quelques parasites et meurt le 4 (huitième jour) en pleine infection.

Cobaye n° 8. — Ce Cobaye de 240 g. à l'infection et 195 g. au traitement est blanchi de ses nombreux parasites (plus de 20 par champ) en vingt-quatre heures, mais il meurt sans raison apparente le 18 mai (dix-neuvième jour) sans avoir présenté de parasites de rechute. Le poids s'était accru depuis le traitement jusqu'à 230 grammes. La température voisine de la normale avait marqué un seul clocher à 40° le 6 mai sans explication.

L'autopsie révèle des traces de liquide d'ascite et des matières semi diarrhéiformes.

0,001 g. p. 100, Cobaye n° 4.

Les parasites sont plus de vingt par champ au moment du traitement ; en quarante-huit heures l'animal est blanchi après une forte diminution parasitaire dès vingt-quatre heures (1/20 champs). Le blanchiment persiste jusqu'au 3 juin (trente-cinquième jour), date à laquelle nous trouvons un parasite de rechute ; l'infection s'accentue jusqu'à 48.000/mm³ le 11 juin puis s'atténue jusqu'au blanchiment le 21 juin. Une seconde rechute dès le 24 juin (moins de 1000/mm³) porte progressivement le taux à 94.000 le 1er juillet. Mais le 3, le sang est à nouveau blanchi. Une troisième rechute s'étale du 4 juillet au 31 juillet, à des taux variant de moins de 1.000 à 27.000 et le 1er août, atteint 86.000. Une nouvelle crise lytique blanchit le sang les 6 et 7 août, tandis qu'une quatrième rechute se déclenche dès le 8 avec une forte poussée le 12 et le 23 à plus de 200.000/mm³. Du 28 au 30, le sang est encore blanchi et une ultime rechute se manifeste par quelques trypans le 31 août et le 1er septembre; le 3, l'animal est retrouvé mort, cent vingt-sept jours après traitement.

La courbe thermique est très irrégulière avec quelques clochers à plus de 40°, mais sans relation apparente avec l'infection ou les crises lytiques.

Le poids ne cesse d'augmenter régulièrement jusqu'à la période agonique, passant de 215 g. à 470 g. le 27 août. Alors, un léger amaigrissement s'amorce et le Cobaye mort pèse 400 grammes.

Dans les derniers temps de la maladie, de la dépilation et d'abondantes desquamations se localisent sur les faces externes des pattes et sur toute la moitié postérieure du corps.

Cobaye n° 5. — Le jour du traitement, le sang présente plus de vingt parasites par champ ; en moins de vingt-quatre heures, il est blanchi et le reste jusqu'au 13 mai (quatorzième jour), date à laquelle il meurt. La température est restée normale. Le poids n'a pas cessé de décroître, de 300 g. à l'infection, il n'est plus que de 260 au traitement et 205 g. à la mort. L'autopsie ne révèle rien de morphologiquement anormal. La formule sanguine manifeste diverses variations de l'infection au traitement ; les polynucléaires neutrophiles passent de 34,5 à 52,5 p. 100 tandis que les lymphocytes tombent de 51,1 à 27,1 p. 100. Une première poussée monocytaire porte le pourcentage de 2,8 à 9,3 p. 100.

Les éléments à corps de Kürloff passent de 7,5 à 5,9 p. 100 tan-

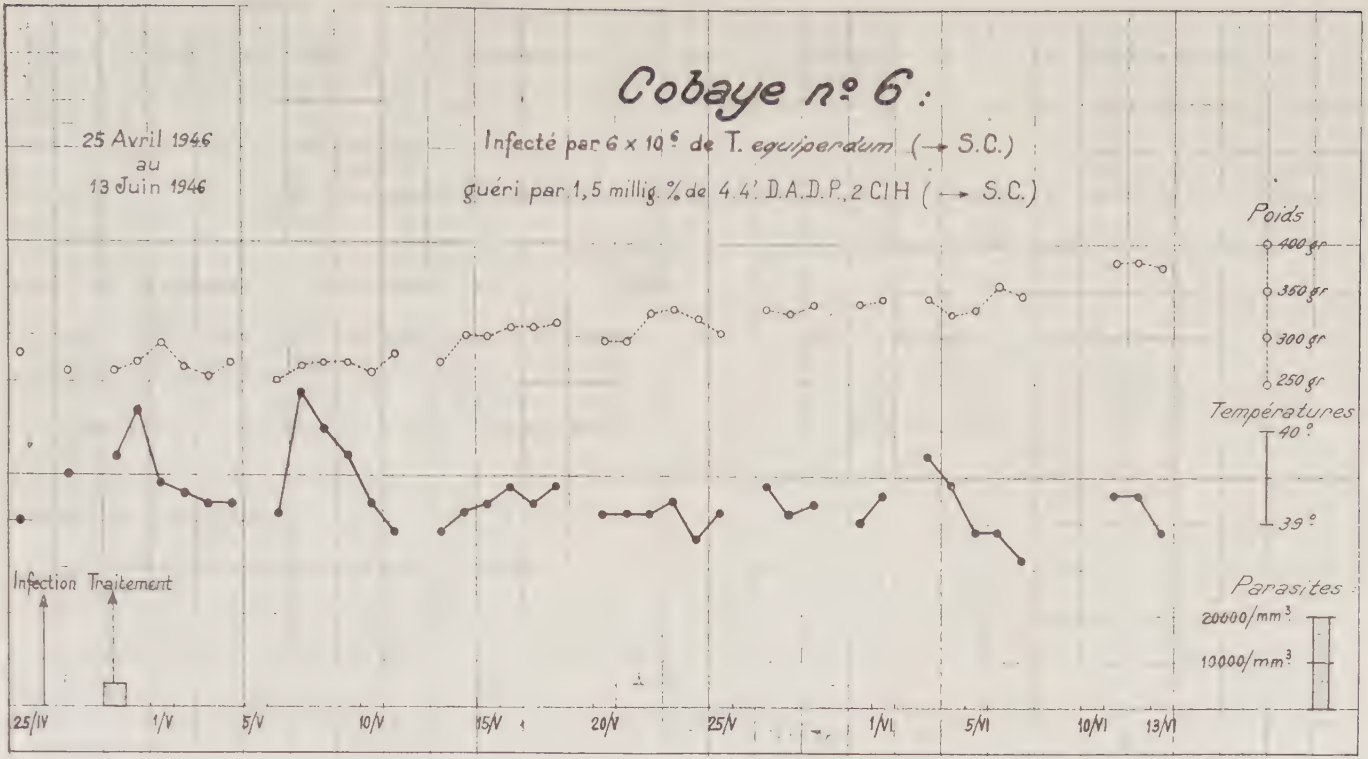

Cobaye n° 6 :
25 Avril 1946
au
13 Juin 1946
Infecté par 6 x 10⁶ de T. equiperdum (→ S.C.)
guéri par 1,5 millig. % de 4.4'. D.A.D.P. 2 ClH (→ S.C.)
Poids
400 gr
350 gr
300 gr
250 gr
Températures
40°
39°
Parasites
20000/mm³
10000/mm³
Infection
Traitement
25/IV
1/V
5/V
10/V
15/V
20/V
25/V
1/VI
5/VI
10/VI
13/VI

FIG. 5

dis que les polynucléaires éosinophiles (1,9 p. 100) et basophiles (2,2 p. 100) ne varient guère.

Après le traitement, les neutrophiles diminuent progressivement jusqu'à 18,4 p. 100 le 4 mai (cinquième jour) puis reviennent autour de 50 p. 100 jusqu'au 11 mai ; les basophiles marquent une légère poussée les 8, 9 et 10 mai (10 p. 100) mais sans suite. Les lymphocytes reviennent à leur taux normal, malgré une légère baisse le 6 (33,4 p. 100) et le 9 (23,8 p. 100) ; les éléments à corps de Kürloff ne cessent de décroître mais restent toujours repérables La poussée monocytaire régresse; de 8,5 p. 100 encore le lendemain du traitement, le pourcentage passe à 2,3 le surlendemain et voisine ce chiffre. Mais le 13, veille de la mort, une seconde poussée monocytaire est subite et considérable à 46,4 p. 100 tandis que les neutrophiles sont à 35,3 et les lymphocytes à 15,8 p. 100. Eosinophiles (0,5 p. 100); basophiles (1,5 p. 100) et éléments à corps de Kürloff (0,5 p. 100) restent normaux.

0,0015 g., Cobaye n° 6 (Fig. 5).

Le sang, qui présente une dizaine de parasites par champ au moment du traitement est blanchi en moins de vingt-quatre heures. Pendant les cent vingt-trois jours que dure l'observation, l'animal reste sans parasites. Nous pouvons donc considérer cette dose comme stérilisante. Le poids ne cesse de s'accroître et de 260 au début, il passe à 620 g. La température marque une poussée à 40°2 le lendemain du traitement et une autre à 40°4 et 40°, les 7 et 8 mai (huitième et neuvième jours). En dehors de ces deux crises, la température est toujours restée normale, autour de 39° (fig. 5).

La recherche du pouvoir infectant du sang est faite le 4 juin (trente-sixième jour) : une Souris reçoit par voie sous-cutanée, 0,40 cm^3 de sang cardiaque; elle reste sans parasites.

Cobaye n° 7.

Présentant une dizaine de parasites par champ au moment du traitement, le Cobaye est blanchi en moins de vingt-quatre heures et le reste pendant tout la durée de l'observation arrêtée le quatre-vingt dixième jour. L'essai de pouvoir infectant, tenté le 4 juin (trente-sixième jour) est négatif : 0,40 cm^3 de sang cardiaque inoculé à une Souris, par voie sous-cutanée, n'infecte pas celle-ci pendant les trente jours de l'observation.

La courbe thermique, en dehors d'un clocher à 40°,2 le lendemain du traitement, reste constamment autour de la normale à 39°. Le poids s'accroît régulièrement de 250 à 350 g. le 11 juin. Puis un amaigrissement progressif le ramène à son poids initial de 250 grammes le 29 juillet (quatre-vingt-onzième jour). Ce jour là, sans réaction thermique, ni symptôme apparent, l'animal meurt. La rate pèse 0,37 g.

La formule sanguine est suivie au début de l'observation. Les polynucléaires neutrophiles, légèrement accrus au début de l'infection (35,2 à 48,5 p. 100) diminuent dès le traitement (20,3 p. 100 le surlendemain) mais en quelques jours rejoignent leur pourcentage initial, voire même un peu supérieur (vers 50 p. 100). Eosino-

philes et basophiles ne marquent pas de variations sensibles. Les lymphocytes diminuent de 50,2 p. 100 avant l'infection à 29,6 p. 100 au lendemain du traitement, puis croissent et après avoir même dépassé leur taux initial à 73 p. 100 le 1er mai, reviennent au chiffre du début ou quelque peu inférieur. Les éléments à corps de Kürloff nombreux avant l'infection (11,5 p. 100) diminuent à 6,2 p. 100 le jour du traitement, puis à 2,5 p. 100 le lendemain et restent autour de ce chiffre. Les monocytes passent de 1,8 p. 100 à l'infection à 7,6 le jour du traitement et 14,1 le lendemain; mais vingt-quatre heures plus tard, reviennent autour de 1 p. 100. L'observation sanguine est arrêtée le 24 mai (vingt-cinquième jour).

Quatrième et cinquième jour : Expérience n° 37, 17 mai 1946.

Deux Cobayes mâles nos 22 (250 g.) et 23 (240 g.) reçoivent six millions de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée, le 17 mai. Tous deux vont être traités par 0,00025 g. p. 100 de 4.4' diamidino-diphénoxypentane. Cette dose seule a été envisagée car, à ce moment, dans l'expérience précédente, elle était blanchissante, non stérilisante et 0,0005 g. n'avait pas encore laissé voir la rechute.

Cobaye n° 22. — Le 21 mai (quatrième jour) l'animal présente quelques rares parasites dans son sang périphérique et le 22 (cinquième jour) 18.000 mm³. Il reçoit alors une injection sous-cutanée de 0,000.25 g. p. 100 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane. En moins de vingt-quatre heures, il est blanchi et le reste jusqu'au 3 juin, douzième jour), où il meurt. L'autopsie met en évidence du liquide d'ascite sans trypans et des poumons hépatisés. Le sang ne présente pas de parasites.

Cobaye n° 23. — Le 20 mai (troisième jour), l'incubation est terminée, le sang présente 33.000/mm³ et dès le 21, la crise lytique s'amorce (14.000). Il est aussitôt traité comme le précédent; le 22, il est blanchi; le 12 juin (vingt-deuxième jour après traitement) nous trouvons un parasite de rechute et moins de 1.000/mm³ les 13 et 14. Une crise blanchit le sang le 17 et le 18. Mais la rechute est confirmée le 19 et la poussée infectante est violente et progressive, atteignant successivement 22.000 le 25 juin, 30.000 le 27, 48.000 le 29 et 212.000 le 1er juillet. La crise lytique suivante est rapide et courte; le 2, il n'y a plus qu'une densité parasitaire inférieure à 1.000/mm³ qui tombe à zéro le 3. Une troisième rechute s'étale du 8 au 12 de 34.000 à 136.000 suivie d'un nouveau blanchiment. A partir du 20 juillet, une dernière poussée se déclenche d'abord lentement, puis croît et l'animal meurt le 21 août (quatre-vingt douzième jour) en pleine infection (252.000 le 19 août, 240.000 le 20 et 576.000 mm³ le 21) après de violentes crises toniques et en hypothermie. Si la rechute bactériologique n'a été observée que vingt-deux jours après traitement, le sang était déjà infectant plus tôt; 0,75 cm³ de sang cardiaque, réparti par voie sous-cutanée, à deux Souris le 27 mai (sixième jour après traitement), provoque l'infection de ces deux Souris qui meurent en dix et onze jours, grouillantes de trypans.

La courbe de température présente de nombreuses oscillations sans rapport constant avec le taux d'infection. A la période agonique, la température s'effondre; de 40° le 19 août, elle passe à 39°1 le 20 et à 34°1 le 21, quelques instants avant la mort. Le poids augmente durant la première moitié de la maladie, passant de 240 g. au début à 360 g. le 4 juillet (quarante-quatrième jour). Dès lors l'amaigrissement est progressif et à la mort, le poids n'est plus que de 215 grammes. A l'autopsie, la rate est hypertrophiée légèrement et pèse 1,65 g.

2° *Infections sévères et traitement précoce.*

Sixième jour. Expérience n° 22, 7 juin 1946.

Infection : Le 7, nous inoculons par voie sous-cutanée, à sept Cobayes mâles n°s 36 à 42, une masse infectante d'un million de *T .equiperdum* (virus Souris). Le 12 (cinquième jour) six sur sept sont positifs et le 13 tous le sont.

Traitement. — Le 13 juin, nous injectons, par voie sous-cutanée, aux Cobayes 36 à 41, une solution à 1/200 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, dans l'eau salée, aux doses suivantes :

N°s 36	0,001	g. p. 100
37	0,0015	g. p. 100
38, 39	0,0020	g. p. 100
40, 41	0,0025	g. p. 100

Nous retrouverons en traitement tardif le Cobaye n° 42.

0,001 p. 100, Cobaye n° 36.

28.000/mm³ parasites circulent dans son sang au moment du traitement, le 13 juin. Le 15, nous n'en trouvons plus jusqu'au 8 juillet (vingt-cinquième jour), date de la mort du Cobaye qui manifeste de fortes diarrhées. La température n'a pas manifesté de réactions, sauf à l'avant-veille de la mort, un clocher sans lendemain à 40°. Le poids a toujours baissé de 305 g. à l'infection, à 250 g. à la mort. L'autopsie montre une rate de 0,24 g. et des matières molles semi-diarrhéiformes. Des traces de liquide d'ascite sans parasites, mais sanguinolent imprègnent la cavité générale.

0,0015 g. p. 100, Cobaye n° 37.

Le sang contient 3000 parasites/mm³ au traitement. Le 15 juin, l'animal est blanchi et le reste durant les soixante-dix-huit jours d'observation. La température reste normale et le poids s'accroît régulièrement de 500 g. à 670 g. le 3 septembre (quatre-vingt deuxième jour).

0,0020 g. p. 100, Cobaye n° 38.

Avec moins de mille parasites/mm³ au traitement, l'animal est blanchi le 15 et reste stérile durant les soixante-dix-huit jours de l'observation. La température reste normale et le poids ne cesse

de croître, passant de 460 grammes à l'infection à 540 grammes le 3 septembre (quatre-vingt-deuxième jour).

0,0025 g. p. 100, Cobaye n° 40.

Traité alors que l'on dénombre 6000 trypans/mm³, ce Cobaye est blanchi à l'examen du surlendemain et ne présente pas de parasites de rechute pendant les soixante-dix-huit jours de l'observation. La température reste normale; le poids baisse notablement après l'injection thérapeutique passant de 390 grammes au moment de celle-ci à 275 grammes le 22 juin (neuvième jour) puis remonte lentement, mais régulièrement jusqu'à 520 grammes le 3 septembre (quatre-vingt-deuxième jour).

Cobaye n° 41.

Traité alors que le sang contient deux mille parasites/mm³, cet animal est blanchi le surlendemain et le reste pour une durée d'observation de soixante-dix-huit jours. La température reste normale. Le poids diminue légèrement après le traitement; de 495 grammes, il passe à 445 grammes le 22 (neuvième jour) puis s'accroît jusqu'à 610 grammes le 3 septembre (quatre-vingt-deuxième jour).

3° *Infections sévères et traitement semi-tardif.*

20 jours, 0,0015 g. p. 100.

Expérience n° 58, 25 octobre 1946.

Infection : Trois Cobayes mâles n°ˢ 100, 101 et 102 de 370, 410 et 390 grammes reçoivent, par voie sous-cutanée, un million de *T. equiperdum* le 25 octobre. Le Cobaye n° 102 est conservé comme témoin ; il présente des parasites dans son sang périphérique le 4 novembre (dixième jour) et meurt le 4 février 1947, après cent deux jours de maladie.

Traitement : Les deux Cobayes nˢ 100 et 101 sont traités le 14 novembre (vingtième jour) alors que leur sang est blanchi par une crise lytique. Ils reçoivent chacun une solution à 1/200 dans l'eau distillée, de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, par voie sous-cutanée, à la même dose de 0,0015 g. p. 100.

Cobaye n° 100. — Cet animal n'est pas mis à l'abri d'une rechute car nous trouvons des parasites de rechute le soixantième jour (la rechute apparente a peut-être été plus précoce, les examens n'ayant pas été suivis systématiquement). Il meurt le 25 février 1947, soit cent trois jours après traitement. Pendant le dernier mois, il a présenté de l'œdème du scrotum et une large dépilation du train postérieur.

Cobaye n° 101. — Pendant les cent jours que dure l'observation, nous ne trouvons pas de parasites de rechute.

26 jours.

Expérience n° 15, 9 mai 1946.

Infection : Ce jour, nous infectons par voie sous-cutanée, trois Cobayes mâles n°s 17 (250 grammes), 19 (285 grammes) et 20 (305 grammes) par une suspension d'un million de *T. equiperdum.*

Nous conservons le Cobaye n° 17 comme témoin; sa maladie a été décrite plus haut. Rappelons seulement que la période d'incubation fut de quinze jours et la mort survint quarante-six jours après l'infection.

Traitement : *0,0015 g. p. 100, Cobaye n° 19.* — Les premiers parasites paraissent le 16 mai (septième jour) et se multiplient le 17 (plus de vingt par champ). Une crise lytique blanchit le sang jusqu'au 24 où nous repérons deux parasites. Jusqu'au 30 mai, le sang paraît à nouveau stérile mais le 31, nous retrouvons quelques parasites (—de 1000/mm³) et le 3 juin, 3000. Le 4 juin (vingt-sixième jour) alors que le sang comporte moins de 1000 parasites/mm³, nous injectons, par voie sous-cutanée 0,0015 g. p. 100 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane en solution à 1/200 dans l'eau distillée. Le lendemain, l'animal est blanchi et le reste jusqu'au 25 juin. Le 26 (vingt-deuxième jour après traitement), nous trouvons deux parasites de rechute et le lendemain, moins de 1000/mm³. Une crise lytique provoque aussitôt un blanchiment de longue durée jusqu'au 21 juillet. Le 22 juillet (quarante-huitième jour), la rechute se confirme et après une violente poussée au maximum le 29 juillet, une crise lytique s'amorce et provoque le blanchiment du 9 au 16 août. Une ultime rechute très forte à partir du 20 août (plus de 200.000/mm³) conduit à la mort le 24 août, quatre-vingt-un jours après le traitement. La température marque deux clochers à 40° le 27 mai et 40°6 le 4 juin avant le traitement. Depuis, la courbe n'a marqué que des variations d'amplitude normale chez le Cobaye. Le poids diminue avant le traitement de 285 à 230 grammes et ensuite augmente, malgré la rechute, jusqu'à 540 grammes, le 29 juillet (cinquante-cinquième jour après traitement). Une nouvelle chute de poids marque la fin de la maladie et l'animal pèse 460 grammes le jour de la mort. A l'autopsie, la rate pèse 2,03 g.

La formule sanguine montre une augmentation relative des polynucléaires neutrophiles à la fin de l'incubation initiale, passant de 50 p. 100 environ à 74,4 p. 100 le 16 mai. En quelques jours, ils reviennent à leur taux antérieur. Le lendemain du traitement est marqué par un nouveau clocher sans durée à 73 p. 100 (la veille 51,7 p. 100, surlendemain 64 5); la baisse consécutive est profonde jusqu'à 29,2 p. 100 (17 juin) puis le taux se rétablit. Les éosinophiles diminuent avant le traitement à moins de 1 p. 100 et dans de nombreux examens, nous n'en trouvons pas. Ex. : mai 14, 16, 17, 18, 21, 27, 29, Juin, 3. Après le traitement, au contraire, ils augmentent à partir de la rechute visible : de 2,5 p. 100 le 17 juin, ils passent à 10,3 le 26 (jour de la rechute), 22 6 p. 100 le 27 et 10.8 le 28. Le 1er juillet, ils sont encore à 19,4 p. 100 et le 5 à 13,6. Les basophiles légèrement accrus à la fin de l'incubation (de 0,5 p. 100 passent à 4,4 p. 100 à l'apparition des premiers pa-

rasites et 8,4 au début de la première crise lytique) reviennent dès le deuxième jour du premier blanchiment à 2,9 et restent ensuite autour de 1 p. 100. Les lymphocytes diminuent à l'apparition des parasites, puis reprennent leur taux initial, sauf le lendemain du traitement où ils baissent à 10,7 p. 100 pour se rétablir aussitôt. Les éléments à corps de Kürloff peu nombreux (0,5 p. 100) se maintiennent bien que, dans certaines lames et de façon sporadique après le traitement, nous n'en trouvions plus. Ex. : les 27, 28, 29 juin, 1er juillet. Les monocytes présentent une forte poussée à la fin de l'incubation initiale et au début de la crise lytique : de 1,1 p. 100 ils passent à 6,2 p. 100 le 16 (apparition des parasites) et 23,6 le 21 (deuxième jour de blanchiment) mais la baisse est rapide et le taux revient à 6,6 p. 100 et 6 p. 100 les 23 et 24 mai. A l'apparition des nouveaux parasites avant le traitement, une seconde poussée se déclenche à 19,6 p. 100 le 29 mai et 19,9 le 3 juin. Le 5, vingt-quatre heures après l'injection thérapeutique, nous trouvons encore 15,2 p. 100; le 7 : 9,5 et le 12 : 23,8 p. 100. Puis une baisse apparaît à 4,6 le 26, 2,5 le 1er juillet et 0,8 le 5. Les derniers examens sanguins n'ont pu être suivis systématiquement. D'autre part, nous avons trouvé quelques hématies nucléées, les premières le 23 mai (quatorzième jour de la maladie) mais elles disparaissent dès le 27 et nous n'en retrouvons plus dans nos examens jusqu'au 5 juillet.

0,0020 g. p. 100, Cobaye n° 20.

La période d'incubation s'étend jusqu'au 21 mai. Le 22 (treizième jour) nous trouvons quelques rares parasites ainsi que le lendemain. Le 24, l'infection atteint 3.000, mais un premier blanchiment de trois jours précède une nouvelle rechute et au moment du traitement, nous ne trouvons que peu de parasites (moins de 1000/mm³). Le lendemain de celui-ci, l'animal est blanchi et son sang nous paraît stérile pour la durée d'observation de quatre-vingt-dix jours. Même cent quatre-ving-six jours après, l'animal vit encore sans parasites.

Pendant la période préthérapeutique la courbe thermique présente deux clochers à 40° et 40°5 juste avant et après la première apparition des parasites. Ensuite, elle est normale. Le poids ne cesse de croître, passant de 305 grammes à 680.

4° *Infections sévères et traitement tardif.*

Rappelons que la moyenne de la maladie a été fixée à soixante-trois jours pour quatorze animaux. Ainsi, nos expériences de traitement à quarante-cinq jours et au delà sont-elles tentées à un stade accentué de la maladie. Déjà à vingt-six jours, il a fallu 0,002 g. p. 100 de produit pour obtenir la stérilisation. Ici, nous risquons de devoir pénétrer trop avant dans la zone de toxicité; nous tenterons donc de fractionner en deux doses la thérapeutique.

45 jours. 0,002 g. p. 100 en deux fois à quarante-huit heures d'intervalle. Expérience n° 22, 7 juin 1946.

Cobaye n° 42. — Infecté par voie sous-cutanée par un million de *T. equiperdum,* son sang est positif le 12 (cinquième jour). Après une succession de poussées et de crises lytiques, il est traité le 22 et le 24 juillet (quarante-cinquième et quarante-septième jours) tandis que la trypanémie est de 3000/mm³. Il reçoit ces deux jours 0,001 g. p. 100 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane par voie sous-cutanée, en solution à 1/200 en même temps qu'un Cobaye neuf qui sert de témoin de toxicité (Cobaye n° 59, 430 g.). Tous deux supportent sans conséquences fâcheuses leurs injections de 0,002 g. p. 100 au total.

En vingt-quatre heures, l'animal infecté est blanchi et le reste jusqu'au 19 septembre. Mais le 20 (cinquante-huitième jour après la fin du traitement) nous trouvons trois parasites. Jusqu'au 4 octobre, nous n'en voyons plus, mais le 5, la rechute se confirme et l'animal meurt le 16 octobre (quatre-vingt quatre jours après).

Quelques jours avant la mort, l'animal présente une vaste déchirure des bourses et perd ses deux testicules. Puis l'éventration s'étend à la tunique musculeuse ventrale et le jour de la mort, les organes internes saillent en dehors. La température ne manifeste rien d'exceptionnel, hormis un clocher dix-sept jours après l'infection alors que grouillent les parasites (40°9). A la fin de la maladie, la température n'a pu être relevée.

Le poids qui, aussitôt après l'infection, avait baissé de 505 à 410 grammes, se relève et au moment du traitement est revenu au niveau initial. Il continue à croître et atteint 575 grammes le 3 septembre. Puis, il y a amaigrissement et à la mort, il n'est plus que de 350 grammes.

0,002 p. 100 en une dose unique. — Expérience n° 47 — 4 septembre 1946.

Cobaye n° 82. — Il est infecté comme le précédent, en même temps qu'un témoin n° 85. Celui-ci déjà étudié plus haut, positif à un examen du vingt-deuxième jour, meurt en cinquante-neuf jours. Le Cobaye 82 est traité le quarante-cinquième jour alors qu'il présente une dizaine de parasites par champ ; il reçoit par voie sous-cutanée 0,002 g. p. 100 de 4.4'diamidinodiphénoxypentane en solution à 1/200 dans l'eau distillée. L'animal est blanchi à l'examen du 22 octobre (troisième jour), mais dès le 29 (dixième jour), nous trouvons un parasite de rechute, de même que le 31. Après une succession de poussées parasitaires et de crises lytiques, l'animal meurt en pleine septicémie le 11 décembre (cinquante-troisième jour). De 470 grammes à l'infection, le poids est de 690 grammes au moment du traitement et de 720 grammes à la mort.

L'autopsie révèle un abondant exsudat sous-cutané justifiant l'enflure et la dureté du ventre de l'animal. La cavité générale est elle-même remplie d'exsudat sanglant dans lequel baignent tous les organes. Le foie est très altéré et présente trois grosses taches roses de consistance pierreuse traversant toute l'épaisseur du tissu hépatique.

57 jours. — 0,002 g. p. 100 en une dose unique. — Expérience n° 20. — 5 juin 1946.

Cobaye n° 30. — Infecté par un million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée, le sang est parasité le 11 juin (sixième jour). Après une succession de poussées et de crises lytiques, l'animal est traité le 1er août (cinquante-septième jour) alors que la trypanémie est inférieure à 1000/mm³. Il reçoit, par voie sous-cutanée, 0,002 g. p. 100 de 4.4'diamidinodiphénoxypentane en solution à 1 p. 100 dans l'eau salée. Le lendemain, le sang est blanchi. Mais le 12 août, nous trouvons un parasite de rechute et n'en voyons plus jusqu'au 28 août. Ce jour nous voulons faire un passage de sang après ponction cardiaque, mais le Cobaye meurt des suites de cette ponction. 2 cm³ du sang réparti sous la peau de trois Souris les infectent ; elles meurent grouillantes de parasites neuf et dix jours après l'inoculation.

61 jours. — 0,0025 g. p. 100 en deux doses égales fractionnées à quarante-huit heures d'intervalle.

Expérience n° 47. — 4 septembre 1946.

Infection. — En même temps que les deux Cobayes 82 et 85 déjà décrits, nous avions inoculé deux autres n°s 84 (340 g.) et 86 (490 g.).

Traitement. — *Cobaye n° 84.* — Le sang a bien été parasité (examen positif du 26 septembre : vingt-deuxième jour). L'animal reçoit par voie sous-cutanée, soixante-et-un jours après l'infection, le 4 novembre, 0,00125 g. p. 100 de 4.4'diamidinodiphénoxypentane en solution à 1/200 et de même le 6 novembre, soit donc une dose totale de 0,0025 g. p. 100. L'animal est blanchi, mais le 20 décembre (quarante-quatrième jour après la fin du traitement) nous trouvons un parasite. La rechute se confirme le lendemain et l'animal meurt le 26 décembre, cinquante jours après la fin du traitement.

Le poids initial de 340 g. était de 360 au début du traitement et de 410 g. à la mort.

Cobaye n° 86. — Nous voulions essayer 0,003 g. p. 100 en trois doses, mais l'animal meurt quarante-huit heures après la première injection, soixante-trois jours après l'infection.

Rappelons que le témoin n° 85 était mort en cinquante-neuf jours.

Conclusions du traitement en général.

Des Cobayes mâles infectés par voie sous-cutanée par *T. equiperdum* (conservé sur Souris) prennent rapidement l'infection. Traités précocement ou non, l'injection parentérale de dichlorhydrate de 4.4'diamidinodiphénoxypentane détermine déjà à 0,00025 g. p. 100 la disparition des trypanosomes circulants en vingt-quatre heures à quarante-huit heures.

Pour des traitements précoces (3, 4, 6 jours) il faut injecter une dose de 0,0015 g. p. 100 pour être à l'abri d'une rechute dans des limites d'observation prolongée (égales ou supérieures à quatre-vingt-dix jours).

Cette dose n'est plus curative que pour un Cobaye sur deux, administrée vingt jours après l'infection et pour vingt-six jours, il faut inoculer 0,0020 g. p. 100 pour stériliser.

A partir de quarante-cinq jours, la maladie n'a pu être guérie ; nous sommes alors dans la période prémortelle et même les doses prétoxiques n'ont pas été curatives. Chez les animaux rechutés, nous avons pu obtenir un retard au déroulement de la maladie, du moins dans les traitements précoces. La durée d'incubation de rechute croît avec la dose injectée et la mort est notablement reculée ; la période d'état est elle aussi prolongée par rapport aux témoins. Par contre, la thérapeutique tardive abrège la période d'état, et il ne semble pas que les doses utilisées aient provoqué quelque retard dans le déroulement de la trypanosomose.

Durée des périodes d'incubation et d'état en fonction des doses.

	Incubation		Etat	
	Pour traitement		Pour traitement	
	Précoce	Semi-tardif et tardif	Précoce	Semi-tardif et tardif
	Jours	Jours	Jours	Jours
0 g. 00025 p. 100	14-22		82-70	
0 g. 00050 p. 100	30		82	
0 g. 001 p. 100	35		92	
0 g. 0015 p. 100	∞	22	∞	59
0 g. 0020 en une dose unique	∞	∞10-11	∞	∞43
0 g. 0020 p. 100 en deux doses égales		58		26
0 g. 0025 p. 100 en une dose	∞		∞	
0 g. 0025 p. 100 en deux doses égales		44		6

Tableau récapitulatif du traitement.

Taux d'infection sous-cut	Jours de traitement	0 g., 00025 p. 100	0,0005	0, 001	0,0015	0,002 dose unique	0,002 en deux doses	0,0025 dose unique	0,0025 en deux doses
6 millions	3	+	+	+	0				
	4	+							
	6				0	0		0	
1 million	20				+0				
	26				+	0			
	45					+	+		
	57					+			
	61								+

+ = Rechute.
O = Traitement stérilisant.

b) Rat et Souris.

N'ayant pas étudié personnellement ce corps (nous verrons plus loin nos observations sur des dérivés), rappelons simplement les conclusions admises à ce jour.

Lourie et Yorke (l. c.) qui, les premiers, utilisèrent les diamidines indiquent des expériences sur *T. rhodesiense* avec un $\frac{C}{T} = \frac{1}{15}$. Comme ils fixent à 0,001 g. la toxicité pour une Souris de 20 g., on voit que la cure est possible avec environ 0,00006 g. Launoy et Lagodsky (l. c.) ont publié dès 1940, leurs expériences entreprises en 1939 et indiquent des doses : toxique de 0,75 mg. et curative de 0,05 mg. avec également un $\frac{C}{T} = \frac{1}{15}$ pour *T. brucei*, souche Institut Pasteur. Ces chiffres sont valables pour des infections et des traitements intra-veineux.

Chez le Rat, ces deux derniers auteurs ont utilisé la voie sous-cutanée. Rappelons la dose toxique moyenne qu'ils indiquent : 0,03 g. p. 100. Ils fixent à 0,001 g. p 100 la dose curative 100 p. 100 pour *T. equiperdum*, soit un $\frac{C}{T} = \frac{1}{30}$.

c) Lapin.

Dans nos expériences sur le Lapin, nous avons utilisé les voies intraveineuse et sous-cutanée et comme chez le Cobaye, nous avons échelonné nos dates de traitement par rapport au début de la maladie. Nous nous sommes limité à deux doses : 0,0050 g. et 0,010 g. par kilog pour la voie intraveineuse et 0,010 g./kg. pour la voie sous-cutanée. Cette posologie expérimentale ne provoque pas de

troubles, à l'exception pour la voie veineuse, d'une courte phase d'abattement dont nous avons vu le détail au cours de la toxicité.

Voie intraveineuse.

0,005 g./kg. — Expérience n° 18 — 21 mai 1946.

Lapin n° 16 — Quatorzième jour.

Infection. — Ce Lapin mâle, en observation depuis quelques jours, reçoit par voie intraveineuse, un million de *T. equiperdum*, virus Souris ; quarante-huit heures plus tard, le 23, nous trouvons un parasite à l'examen sanguin. Le 27, un passage de sang de la veine marginale de l'oreille (0,75 cm³) à deux Souris, par voie sous-cutanée est positif en cinq jours et les deux Souris meurent infectées en neuf jours. Le 31 (dixième jour) un léger œdème du fourreau confirme l'infection. La température marque deux clochers sans lendemain à 40,2° le 25 et à 40,1° le 1er juin. Le poids ne cesse de diminuer et de 2170 g. au moment de l'infection, tombe à 2050 g. le 4 juin (quatorzième jour).

Traitement. — A ce moment, alors que nous ne voyons pas de parasites dans le sang, nous injectons, par voie intraveineuse 0,005 g./kg. de dichlorhydrate de 4.4' diamidinodiphénoxypentane en solution à 1/200 dans de l'eau salée.

Les examens sanguins sporadiques ne révèlent plus jamais de parasites. Mais la rechute est affirmée par le pouvoir infectant du sang et du liquide d'œdème du fourreau et des bourses.

En effet, ce léger œdème qui avait regressé le surlendemain du traitement pour disparaître en sept jours avait réapparu le 14 (dixième jour). Nous avons ce jour là fait un passage sous-cutané de 2 cm³ de sang à deux Souris. L'une meurt huit jours après sans parasites avec des hématies agglutinées et lysées ; l'autre est infectée et meurt grouillante de trypans, quinze jours après.

D'autre part, trois jours après ce passage, nous ponctionnons, le 17 juin (treizième jour après traitement) une des bourses qui est œdématiée. Le liquide prélevé près de l'épididyme présente d'assez nombreux parasites très mobiles.

A ces signes sanguins et d'exsudats qui attestent la rechute, les symptômes cliniques classiques observés dans l'étude de la maladie se déclarent successivement.

Après l'œdème du fourreau puis des bourses, nous voyons celles-ci se scléroser et le 24 juin (vingtième jour), une hémorragie légère apparaît sur la bourse gauche qui s'accentue le lendemain, puis il y a cicatrisation. Le 2 juillet (vingt-huitième jour), la base des deux oreilles est œdématiée et il se forme de petites croûtes avec dépilation. Vers le 9, le museau à son tour, perd des touffes de poils tandis que les lésions génitales s'accentuent. Le 10 (trente-sixième jour), il se produit une éventration testiculaire gauche avec hémorragies ; le testicule reste suspendu par ses conjonctions sanguines et séminales aux autres tissus organiques et seulement le 13, il se détache. Le 16, nous retrouvons le Lapin mort et fortement décomposé, quarante-deux jours après l'injection thérapeutique et cinquante-six jours après l'infection expérimentale.

La courbe de température après le traitement marque un clocher à 39°9 le 14 juin, jour de la reprise de l'œdème du fourreau et à 40°2 au moment de l'œdème des bourses. Puis, après une baisse à 39°6 (21 juin), elle reprend un niveau d'hyperthermie dès le 24 juin à 40°1 et reste à plus de 40° sans discontinuer jusqu'au 10 juillet (sauf le 5 à 39°5). Puis une baisse s'amorce avant la mort à 39°7 le 11, 39°9 le 12 et 39°2 le 13.

Le traitement a suspendu l'amaigrissement rapide qui avait suivi l'infection. De 2.050 g. le poids remonte progressivement jusqu'à 2.650 g. le 10 juillet. Puis une perte de poids coïncide avec la période agonique et l'animal à sa mort pèse 2.250 g.

Lapin n° 17. — 22e jour.

Infection. — Ce Lapin mâle, mis en observation en même temps que le précédent, est infecté dans les mêmes conditions le 21 mai 1946 (Un million *T. equiperdum* par voie veineuse). Le 1er juin, la température atteint 40°1 et reste ensuite voisine de ce niveau. Le 7 juin, les premiers signes cliniques sont notés, sous forme d'un œdème de la bourse gauche et le testicule perd de sa mobilité. Le 11, l'anus est à son tour œdématié, tandis qu'apparaît une légère conjonctivite bilatérale.

Traitement. — Le 12 juin (vingt-deuxième jour), nous inoculons dans la veine marginale de l'oreille une solution à 1/200 dans l'eau salée de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à la dose de 0 005/kilog.

Les quelques examens de sang effectués ultérieurement ne présentent pas de parasites. Par contre, le 28 juin (seizième jour après traitement), un passage sous-cutané de 2 cm^3 de sang répartis à deux Souris provoque l'infection de celles-ci et leur mort, en pleine septicémie, huit jours plus tard.

D'autre part, l'observation des signes cliniques confirme la rechute. Le surlendemain du traitement, l'œdème de l'anus a disparu mais l'enveloppe testiculaire reste dure. Le 19 (septième jour) apparaît de la dépilation du museau, le 25, une légère desquamation à la base de l'oreille gauche et le 27, de l'œdème des paupières. Ces divers symptômes s'accentuent et le 2 juillet, un écoulement purulent suinte des deux yeux et obture même l'œil gauche. La dépilation du museau s'aggrave, puis un très gros œdème susorbitaire atteint le 8 l'œil droit et les deux le 9 juillet. Les bourses sont toujours durcies et pourtant un œdème se manifeste le 17 juillet, notamment à droite. Une ponction de cet œdème révèle la présence d'assez nombreux parasites très mobiles.

Le 23 juillet, une petite plaque noduleuse apparaît sur l'oreille gauche.

Avec tout ce cortège de signes cliniques, confirmant la rechute, la courbe de température est révélatrice. De 39°9 le jour du traitement (12 juin), la température baisse autour de la normale jusqu'au 18, mais le 19, saute brusquement à 40° et à 40°2 les 21 et 22.

Un retour à la normale marque la période suivante jusqu'au 28, mais le 29, le classique plateau à 40° et plus est atteint, à l'exclusion d'une fois 39°2, une fois 39°6 et une fois 39°7.

Quant au poids qui n'avait pas sensiblement varié pendant la maladie initiale (2.330 g. à 2.430), il n'a cessé de croître et atteint 3.050 g. le 11 juillet et 2.930 g. le 31 juillet.

Observation : Ce Lapin a été traité le 31 juillet (quarante-neuvième jour après premier traitement) par 0,01/kg. par voie sous-cutanée. Nous en verrons plus loin le devenir. Disons seulement que cette dose, utilisée par cette voie, s'est révélée curative.

0,010/kg. — Expérience n° 13. — 9 mai 1946.

Lapin n° 15. — Trente-neuvième jour.

Infection : Le 9 mai, nous infectons, par voie sous-cutanée avec deux millions de *T. equiperdum*, un Lapin mâle observé depuis plusieurs jours et pesant 2.090 g. à ce moment. Sans que nous trouvions de parasites dans le sang circulant, celui-ci est infectant le 16 mai (septième jour) ; en effet un passage de 0,75 cm^3 de sang par voie sous-cutanée à deux Souris est positif et toutes deux meurent grouillantes de parasites sept et huit jours après. Le 5 juin (vingt-septième jour) apparaît le premier signe clinique sous forme de deux croûtes avec desquamation à la base de l'oreille gauche. Le lendemain se déclare un léger œdème d'une narine et du côté gauche du museau qui augmente les jours suivants. Puis le 11 juin, nous notons de la conjonctivite à droite et le 14, un épaississement et durcissement de l'enveloppe testiculaire droite. Le 17 (trente-neuvième jour), la desquamation atteint la base des deux oreilles et le pourtour de l'œil gauche.

La température, normale dans les premiers jours, atteint subitement 40° le 20 mai (onzième jour) et 40°1 le 21, mais revient ensuite à la normale pendant un palier jusqu'au 31 où à nouveau l'hyperthermie se manifeste. De 40°4 ce jour-là, elle va rester à plus de 40° sans rémission jusqu'au jour du traitement.

Le poids diminue très légèrement passant de 2.090 à 1.800 g. le jour de l'injection thérapeutique le 17 juin.

Traitement : Le 17 juin, trente-neuvième jour de maladie, dans la veine marginale de l'oreille, nous injectons une solution dans de l'eau salée de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à la dose de 0 010 g./kg.

En trois minutes, l'animal présente du prurit nasal et une courte phase d'excitation. Assoiffé, l'animal boit avidemment l'eau qui lui est présentée, puis il défèque des selles demi-molles (six minutes). La température tombe de 40° avant l'injection à 38°8 quarante minutes après. Le lendemain, elle est de 38°4 et revient autour de 39° le 19 et les jours suivants. Le 21, les deux oreilles sont obturées par des suintements sanguinolents desséchés et le 24 une grosse escarre dorsale se forme. Le lendemain se déclenche une éventration testiculaire droite ; à ce moment, nous ne trouvons pas de parasites dans le sang ; la formule sanguine est alors :

Polynucléaires neutrophiles	72 p. 100
Eosinophiles	0,4 p. 100
Basophiles	0,4 p. 100
Lymphocytes	22,7 p. 100
Monocytes	4,5 p. 100

La température s'effondre à 30°9 à 11 heures et l'animal meurt à 14 heures. Le poids qui avait quelque peu baissé avant le traitement accentue sa perte et à la mort n'est plus que de 1.600 grammes.

A l'autopsie, la vessie est vide, la bourse droite est déchirée et le testicule pend tandis que le gauche semble normal. La rate pèse 1,88 g. et les autres organes paraissent normaux. Dans le gros intestin, nous trouvons trois vers du genre Oxyurus. Le sang du cœur diastolique ne présente pas de trypanosomes.

Lapin n° 20. — 23e jour.

Infection : Le 25 mai, nous infectons, par voie sous-cutanée, ce Lapin mâle avec deux millions de *T. equiperdum*. Quarante-huit heures plus tard, un passage sous-cutané de 0,75 cm³ de sang à deux Souris est positif et les deux Souris meurent infectées sept et onze jours plus tard. Le premier signe clinique externe se manifeste le 7 juin (treizième jour) par de l'œdème de la base des deux oreilles qui sont douloureuses au toucher. Le 11 apparaît de la dépilation du museau et le 17 les organes génitaux sont atteints à leur tour par de l'œdème du fourreau ; sur la verge se forment des escarres sanguinolentes. La dépilation atteint également l'angle antérieur de l'œil droit. A ce cortège de signes s'ajoute le tracé de la courbe thermique : après un clocher à 40°3 le 31 mai et 40°4 le 3 juin, la température revient à 39°7 et 39°6 les jours suivants pour remonter à 40° le 6 et dès lors rester à plus de 40°.

Le poids baisse légèrement à la suite de l'infection et passe de 2.800 à 2.550 dans les vingt-deux jours qui la suivent.

Traitement : Le vingt-troisième jour de la maladie, le 17 juin, nous inoculons par voie intraveineuse, une solution de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à la dose de 0,010 g./kg.

Une minute plus tard, nous observons de la parésie du train postérieur et en trois minutes du prurit avec agitation des oreilles et grattage du museau. Après dix minutes, l'animal boit avidemment ; mais très vite, la phase d'abattement consécutive s'efface et le Lapin reprend son attitude normale. Quarante-huit heures après l'injection, la verge se décongestionne malgré ses plaques nécrotiques. Le 25 juin (huitième jour) un passage sous-cutané de 2,20 cm³ de sang réparti à deux Souris reste négatif pendant les trente jours où nous les observons.

Mais le 2 juillet (quinzième jour) apparaît une légère dépilation avec un début de desquamation sur le museau. En quelques jours, cette tache dénudée s'estompe et les poils repoussent d'abord par la périphérie. Le 10 juillet (vingt-troisième jour) l'enveloppe testiculaire droite est congestionnée et le testicule n'a plus guère de mobilité ; le surlendemain il se forme une zone d'œdème vers la tête de l'épididyme. Le 16 (vingt-neuvième jour) presque toute la bourse est durcie sauf la pointe que nous ponctionnons ; dans le liquide d'œdème, nous voyons de nombreux parasites très mobiles. Les symptômes de rechute s'affirment ; à son tour, le testicule gauche est congestionné et œdématié ; de la dépilation atteint l'œil droit. Les deux bourses sont sclérosées le 26 juillet et le 31, un léger écoulement sanguin suinte sur l'enveloppe droite.

La courbe de température ajoute ses renseignements à la fiche clinique ; de 40°7 au moment du traitement, elle baisse le lendemain à 39°4 et reste à la normale jusqu'au 8 juillet où elle monte subitement à 40°3 et 40°4 le 9 juillet. Un répit de deux jours précède une nouvelle crise d'hyperthermie à 40°1 le 12. Un second répit est laissé à l'animal mais depuis le 19, la température reste à nouveau à plus de 40°.

Le poids s'est ressenti de l'injection thérapeutique et l'animal a repris du poids, passant de 2.550 progressivement à 3.000 g. le 9 juillet. Mais à partir de ce moment, la courbe baisse à nouveau et atteint 2.750 grammes le 31 juillet.

Observation : Ce Lapin a été traité le 31 juillet (quarante-quatre jours après le premier traitement) par 0,010/kg. par voie sous-cutanée. Nous en verrons plus loin le devenir. Disons seulement que cette posologie s'est avérée curative.

Voie sous-cutanée : 0,010/kg.— Expérience n° 18 : 21 mai 1946. — Lapin n° 18, 35e jour.

Infection : Infecté le 21 mai par un million de *T. equiperdum*, par voie intraveineuse. Les différents symptômes classiques de la trypanosomose se révèlent successivement chez ce Lapin mâle. C'est par de la conjonctivite droite le 31 mai, que l'observation débute et dès le 3 juin, elle est bilatérale avec œdème. Le 4 apparaît de l'œdème du fourreau et le lendemain, une légère plaque d'œdème à la base de l'oreille droite. Le museau à son tour est enflé le 6. Vingt-quatre heures plus tard, de la desquamation remplace l'œdème sur le museau et en avant de l'œil droit. Ces différentes altérations s'accentuent et le 21 juin, les deux yeux laissent échapper un suintement mucopurulent qui le 24, clot à demi les paupières. Les lèvres sont à ce moment congestionnées et œdématiées et les narines portent des croûtes sèches.

La courbe de température associe son allure classique aux signes précédents ; elle monte subitement à 40° le 28 mai (septième jour) et après un répit de quarante-huit heures, atteint à nouveau 40°5 le 31 et reste en plateau près de ce niveau jusqu'au 21 juin, puis jusqu'au 25 est désordonnée (39°5, 39°9, 39°4). Le poids ne cesse de diminuer depuis l'infection, passant progressivement de 2.850 g. le 21 mai à 1.950 g. le 25 juin (trente-cinquième jour).

Traitement : Le 25 juin, devant l'importance des lésions, nous traitons par voie sous-cutanée ce Lapin en lui inoculant 0,010 g./kg. de 4.4' diamidino-diphénoxypentane en solution à 1/200 dans l'eau salée.

Dès le 28, nous notons une amélioration de certains signes cliniques. Le pus périoculaire diminue et se fluidifie. Par contre se développe une zone de dépilation sur le museau et des deux côtés des narines. Les deux bourses sont sclérosées le 2 juillet et le 5 apparaît une petite dépilation sur la patte postérieure gauche. Puis après un palier l'amélioration se dessine et le 22 juillet, les zones de dépilation du museau et de la patte s'atténuent et disparaissent. Les œdèmes du fourreau et de l'anus disparaissent à leur tour vers le 25 et

les enveloppes testiculaires font une réparation tissulaire, ainsi que le pourtour des yeux. Le 19 août, nous pouvons enfin retrouver le facies normal de notre animal. Malheureusement, le 20 septembre, alors que le Lapin paraît normal, une violente crise de diarrhée se déclare qui augmente et le 21 (quatre-vingt-huitième jour du traitement), l'animal meurt. A l'autopsie, nous ne trouvons aucun œdème et tous les organes sont apparemment normaux, à l'exclusion du gros intestin vasodilaté, le grand colon est très hémorragique, pigmenté de taches sanguines sur toute sa surface. L'appendice est extrêmement dilaté et rempli de déchets blanchâtres.

Le blanchiment du sang est vérifié le soixante-troisième jour du traitement (27 août) par un passage sous-cutané de 10 cm³ de sang intraveineux à un Rat qui ne prend pas l'infection et de 3 cm³ à deux Souris dont le sang reste également stérile. Le jour de la mort, dès celle-ci, nous inoculons encore à un Rat, par voie sous-cutanée, 7 cm³ de sang cardiaque et à une Souris 0,20 cm³. Ni l'un, ni l'autre, ne sont infectés (Observation des Rats supérieurs à quatre-vingt-dix jours).

La température, depuis l'injection thérapeutique, est toujours restée autour de 39°4 à l'exception d'un clocher de sept jours du 22 juillet (39°8) au 29 (39°8) après passage à 40° le 23.

La courbe de poids n'avait cessé de monter de 1.950 à 2.800 g. le 22 août.

Le 20 septembre, le poids était encore de 2.650 g., mais les crises diarrhéiques du 20 et 21, ont provoqué une chute considérable puisque l'animal meurt le 21, ne pesant plus que 2.270 g.

Lapin n° 19. — 35 jours.

Infection : Nous infectons ce Lapin mâle suivant le même protocole que le numéro 18, à la même date, le 21 mai 1946.

Le 29 apparaît de l'œdème du fourreau, puis de la paupière droite ; de la conjonctivite accompagne ces premiers symptômes le 31. Les deux oreilles sont à leur tour atteintes le 5 juin et le museau le 11. Ce jour-là, les deux bourses réagissent et sont congestionnées, tandis que la droite subit une sorte d'épaississement tissulaire.

La conjonctivite qui est bilatérale le 11 fait place à de la suppuration d'un œil, puis des deux, le 21 juin. Le liquide mucopurulent qui s'écoule en séchant obture à moitié les deux yeux le 24 juin.

La température marque son tracé classique ; après un clocher à 40°2 le 23 et 40°5 le 25 et un répit de trois jours, l'hyperthermie en plateau à plus de 40° débute le 29 mai et persiste encore sans interruption le 25 juin.

Le poids ne varie pas sensiblement passant seulement sans brusques variations de 2.680 grammes le 21 mai à 2.530 le 25 juin.

Traitement : Ce 25 juin, au trente-cinquième jour de la maladie, nous traitons ce Lapin comme le précédent par 0,010 g./kg. de 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Le 2 juillet, nous notons une légère dépilation du museau, des narines et des zones périoculaires. Le fourreau et l'anus sont encore œdématiés et les bourses dures. Mais très rapidement, ces diverses

altérations s'effacent et en moins d'un mois après le traitement le 22 juillet, nous pouvons noter qu'aucune trace apparente de la maladie reste visible. Quatre cent soixante jours après le traitement, l'animal semble normal.

La recherche du pouvoir infectant du sang est négative à l'essai du 27 août (soixante-troisième jour après traitement); 10 cm^3 de sang veineux passés par voie sous-cutanée n'ont pas infecté le Rat inoculé. Il en est de même de deux Souris qui ont reçu en tout 2 cm^3. La température, dès le lendemain de l'injection, reste autour de la normale et le poids ne cesse d'augmenter jusqu'à 3.800 grammes le 14 novembre.

Lapin n° 17.

Observation : Nous avons déjà étudié plus haut l'infection de ce Lapin et sa rechute malgré l'injection de 0,005 g./kg. de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, par voie intraveineuse, vingt-deux jours après l'infection.

La rechute étant confirmée, nous le traitons à nouveau, mais cette fois, par voie sous-cutanée et à la dose de 0,010 g./kg.

Traitement : Nous injectons, par voie sous-cutanée, 0,010 g./kg. de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, le 31 juillet, quarante-neuf jours après le premier traitement.

Les lésions cutanées et génitales sont profondes. Le 3 août, l'œil gauche est totalement obturé par les sécrétions purulentes et la paupière supérieure est fendue ; la paupière inférieure droite saigne. Une grosse escarre sanguinolente s'étend sur la partie dorso-lombaire. Le 19, nous ôtons les croûtes qui couvrent les paupières qui nous apparaissent alors en dentelle.

Le museau est de plus en plus dépilé et l'escarre dorsale provoque un vaste décollement du derme. Le 22, les deux soles plantaires postérieures portent deux escarres sanguinolentes.

La gravité de tous ces symptômes régresse cependant et le 3 septembre (trente-quatrième jour après second traitement) une légère amélioration se déclenche, les poils repoussent sur les joues et le museau, les escarres ont tendance à sécher et le 9, le fourreau n'est plus œdématié. Le 24, les paupières sont bien décollées malgré leur pourtour en dentelle. Sur le globe oculaire, nous remarquons deux petites taches opaques, la dépilation autour des deux yeux s'atténue et le 1er octobre, le museau est garni à peu près normalement de poil nouveau. Les croûtes des soles plantaires diminuent et les coussins se reconstituent. L'état général continue à s'améliorer et le 21 janvier 1947, cent soixante-quatorze jours après le second traitement, le Lapin a repris son facies normal, à l'exclusion du pourtour des paupières, cicatrisé, mais irrégulier.

La température de 40°5 avant ce traitement, tombe à 38°6 le lendemain, mais remonte à 40°2 le 3 et 40°5 le 6. Puis une succession de sautes brusques à 40° et plus, alterne avec des retours à la normale. C'est le 3 septembre que nous notons le dernier 40° et durant le mois, la courbe reste autour de 39°6. En octobre, la moyenne s'abaisse encore un peu et nous retrouvons dès lors le tracé d'un animal sain.

Le poids qui était de 2.930 grammes au moment du deuxième traitement, continua à baisser jusqu'à 2.600 grammes le 22 août et se maintint aux environs de ce niveau jusqu'au 13 septembre (2.650 grammes). Puis une augmentation de poids sensible se déclenche et de 2.800 grammes le 24 septembre, l'animal atteint progressivement 3.000 le 1er octobre, puis 3.500 le 8 janvier 1947.

Lapin n° 20.

Observation : Nous avons rapporté plus haut l'échec de la thérapeutique intraveineuse de 0,010 g./kg. du 4.4' diamidinodiphénoxypentane sur ce Lapin, vingt-trois jours après l'injection sous-cutanée de *T. equiperdum*.

Traitement : Un second traitement à la même dose lui est appliqué, mais par voie sous-cutanée, le 31 juillet 1946, quarante-quatre jours après le premier. L'amélioration des diverses altérations tissulaires est rapide. La dépilation des yeux encore sensible le 6 août n'est plus repérable le 19. Ce jour là, les bourses sont encore sclérosées, mais une régénération tissulaire se manifeste et le 27, les enveloppes testiculaires ont retrouvé une peau nouvelle.

Et depuis le 2 septembre (trente-troisième jour), l'animal a repris son facies normal. Toutefois, nous observons une dépigmentation constante d'une petite touffe de poils sur le museau, à l'endroit où s'était manifesté la plus longue dépilation.

La température, de 40° le jour du traitement, tombe à 38°9 le lendemain et depuis, reste voisine de la normale.

Le poids est également amélioré et monte de 2.750 g. le jour du traitement à 3.600 g. le 14 novembre (cent sixième jour après).

Conclusions sur le traitement du Lapin.

La voie intraveineuse nous fournit un résultat thérapeutique décevant alors que l'injection sous-cutanée permet, à la même dose, la stérilisation des animaux infectés.

Les expériences ci-dessus montrent que les doses intraveineuses, de 0,005 g./kg. et 0,010 g./kg. sont insuffisantes et la rechute est constante.

Par contre, 0,010 g./kg. suffit, par voie sous-cutanée, à stériliser des Lapins infectés depuis plus d'un mois ou à guérir des Lapins rechutés après l'emploi intraveineux de doses non curatives.

Tous nos animaux guéris ont fait une régénération tissulaire active et après un délai plus ou moins long, le facies normal, très altéré au moment du traitement, se retrouve. Nous pouvons considérer comme agent trypanocide actif le dichlorhydrate de 4.4' diamidinophénoxypentane contre *T. equi-*

perdum inoculé au Lapin, à condition d'éviter la voie veineuse, plus toxique et inactive à dose égale.

d) Tableau récapitulatif de l'action curative par voie sous-cutanée du 4.4'diamidinodiphénoxypentane contre *T. equiperdum.*

Date du traitement	Cobaye g. p. 100		Rat g. p. 100		Lapin g./kg.	
	Dose curative	$\frac{C}{T}$	Dose curative	$\frac{C}{T}$	Dose curative	$\frac{C}{T}$
Précoce (3-4-6 jours).....	0,0015	$\frac{1}{2}$				
Semi-tardif ou tardif	0,002	$\frac{1}{1,5}$	0,001	$\frac{1}{30}$	0,01	$\frac{1}{6,4}$

2° Action curative sur *Trypanosoma evansi.*

La souche de *T. evansi* dont nous avons étudié la morphologie ci-dessus est notablement plus résistante au 4.4' diamidinodiphénoxypentane que *T. equiperdum* chez le Rat. Launoy et Lagodsky ont fixé pour cet animal, la dose curative à 0,012 g. p. 100 dans leurs dernières recherches car aux doses inférieures, ils ont eu des rechutes très tardives. Cette dose, relativement élevée, supportable cependant par la voie sous-cutanée employée donne un $\frac{C}{T}$ bien plus élevé que pour *T. équiperdum* puisqu'il passe à $\frac{1}{2,4}$. Nous avons pour notre part, recherché l'activité de cette diamidine chez le Cobaye.

Expérience n° 54, 17 octobre 1946.

Infection : Six Cobayes mâles n°s 87 à 91 et n° 97 reçoivent, par voie sous-cutanée, un million de *T. evansi,* prélevé chez la Souris. Le Cobaye n° 97 sert de témoin d'infection. Positif le 23 (sixième jour) cet animal de 325 grammes meurt grouillant de parasites le 14 novembre, vingt-huit jours après l'infection. Le poids s'est accru de 325 à 375 grammes.

Traitement : Les cinq Cobayes n°s 87 à 91 reçoivent, par voie sous-cutanée le 23 octobre (sixième jour), une solution à 1/200 dans l'eau distillée de 4.4' diamidinodiphénoxypentane aux doses respectives de :

N°s 87	.....	0,50 mg. p. 100	330 g.
88	.....	1 mg. p. 100	320 g.
89	.....	1,50 mg. p. 100	400 g.
90	.....	2 mg. p. 100	370 g.
91	.....	2,50 mg. p. 100	300 g.

A ce moment, les Cobayes 87, 89 et 91 présentent quelques parasites dans le sang périphérique (moins de 1 par champ). Les deux autres n'en montrent pas.

A l'examen, quarante-huit heures plus tard, nous ne trouvons plus de parasites chez aucun Cobaye et aucune rechute ne se manifeste pour une observation de quatre-vingt-dix jours.

Les Cobayes vivent encore. Tous les animaux grossissent.

Conclusion. — Dès la dose de 0,0005 par voie sous-cutanée, le 4.4' diamidinodiphénoxypentane est curatif pour un traitement précoce du sixième jour de Cobayes mâles infectés par *Trypanosoma evansi*.

Rappelons qu'il nous avait fallu 0,0015 g. p. 100 pour guérir dans des conditions similaires des Cobayes infectés par *T. equiperdum*.

A l'opposé du Rat, le Cobaye est plus facilement stérilisé de *T. evansi* que de *T. equiperdum* par l'emploi sous-cutané du 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

3° Action curative sur *Trypanosoma brucei.*

Nous avons décrit la morphologie des deux virus de *T. brucei* que nous avons au Laboratoire. Nous n'en avons pas poussé l'étude thérapeutique déjà faite par d'autres auteurs.

Rappelons simplement que Launoy et Lagodsky travaillant sur les mêmes souches ont publié divers renseignements dont nous donnons les résultats.

Pour la Souris infectée par voie veineuse et traitée par la même voie, la dose curative est de 0,000.05 pour une Souris de 20 grammes. Comme la dose toxique indiquée est de 0,00075, le $\frac{C}{T}$ est $\frac{1}{15}$. Ces derniers résultats sont ceux sur la souche Institut Pasteur.

Les travaux sur le Rat ont été conduits sur les deux souches et les résultats sont les suivants pour des infections et traitements sous-cutanés.

T. brucei, souche Institut Pasteur : dose curative = 0,0005 g. $\frac{C}{T} = \frac{1}{60}$.

T. brucei, souche anglaise : dose curative = 0,0009 g. $= \frac{1}{33}$.

La souche anglaise se montre moins sensible à l'action de cet agent trypanocide. Nous devons donc ajouter cet argument de différenciation aux caractères séparatifs de leur morphologie et aux renseignements intéressant la maladie du Cobaye, mortelle pour la souche anglaise et spontanément guérie pour la souche Institut Pasteur.

CHAPITRE V.

ÉTUDE DE L'ACTION CURATIVE DE QUELQUES DÉRIVÉS SUBSTITUÉS DU DIAMIDINODIPHÉNOXYPENTANE.

1° Dérivé diméthylé.

Action curative sur *T. equiperdum.*

Expérience n° 32, 10 juillet 1946.

Infection : Le 10 juillet nous infectons par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum* onze Rats n°s 141 à 151 pesant de 100 à 120 grammes.

Le 16 tous présentent à l'examen sanguin de très nombreux parasites.

Traitement : Le 16 juillet (sixième jour d'infection) nous traitons les Rats n°s 141 à 150. Le Rat n° 151 est conservé comme témoin et meurt le jour même à midi. Ce traitement très tardif (appliqué à 11 heures le 16 juillet) est fait aux doses suivantes *exprimées en diamidine non substituée :* (solution à 1 p. 1000).

N°s 141 : 0,00025 g. p. 100	146 : 0,00150 g. p. 100
142 : 0,00050 g. p. 100	147 : 0,0020 g. p. 100
143 : 0,00075 g. p. 100	148 : 0,0030 g. p. 100
144 : 0,00100 g. p. 100	149 : 0,0040 g. p. 100
145 : 0,00125 g. p. 100	150 : 0,0050 g. p. 100

Dès 17 heures, soit en six heures, tous les animaux sont blanchis. L'injection ne nuit pas dans les deux jours suivants à une augmentation régulière du poids des Rats traités.

Rat n° 141 : 0,00025 g. p. 100.

Le 25 juillet (neuvième jour après traitement) nous trouvons quelques rares parasites de rechute. Il meurt en pleine infection le 31 (quinzième jour).

N° 142 : 0,00050 g. p. 100 : Le 25 juillet (neuvième jour), nous trouvons deux parasites de rechute et le 12 août il meurt grouillant de parasites (vingt-septième jour).

N° *143* : 0,00075 g. p. 100. Le 16 août, l'animal est encore blanchi, mais le 19, il grouille de trypanosomes et meurt le 20 août (trente-cinquième jour).

N° *144* : 0,0010 g. p .100. Encore blanchi le 16 août, il est retrouvé mort le 19 août.

L'autopsie révèle du liquide d'ascite et une rate hypertrophiée de 2,75 g. Nous ne trouvons pas de parasites mobiles dans le sang ou le liquide d'ascite, mais un frottis de sang cardiaque révèle de très nombreux restes de trypanosomes en partie autolysés. La mort est donc bien due à l'infection de rechute.

N° *145* : 0,00125 g. p. 100. Le 19 août, nous trouvons d'assez nombreux parasites et l'animal meurt le 21 août (trente-sixième jour).

N° *146* : 0,00150 g. p. 100. Même observation que le précédent : rechute et mort en trente-six jours.

N° *147* : 0,0020 g. p. 100. Blanchi jusqu'au 26 septembre, le sang présente quelques parasites le 1er octobre et meurt le 5 (quatre-vingt-unième jour) en pleine infection.

N°s *148, 149, 150.* 0,0030 g., 0,0040 g., 0,0050 g. :

Pour une observation de cent jours, ces doses sont curatives. Les animaux guéris ne présentent pas de pouvoir réfractaire à une nouvelle infection cent quarante trois jours après le traitement et meurent infectés en quelques jours.

Conclusion : A partir de 0,0030 g. p. 100 en diamidine non substituée, le dérivé diméthylé est *curatif* par voie sous-cutanée pour le Rat infecté par *T. equiperdum.*

Les animaux rechutés, d'autant plus tardivement que la dose est plus forte, font tous une maladie aiguë.

Pour ce dérivé, le $\frac{C}{T}$ est de $\frac{1}{3,3} = \frac{0,003}{0,010}$, soit près de dix fois supérieur à celui du produit non substitué ($\frac{1}{30}$).

2° Dérivé diéthylé.

Action curative sur *T. equiperdum.*

Expérience n° 42. 21 août 1946.

Infection : Ce jour, nous infectons par un million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée, onze Rats n°s 198 à 208 pesant de 75 à 105 grammes.

Comme dans nos autres expériences, c'est le traitement tardif que nous appliquons, mais ici les Rats font une maladie suraiguë et le 26 (cinquième jour) nous avons déjà cinq morts. Nous traitons aussitôt les autres qui grouillent de parasites.

Traitement : Nous injectons une solution à 1/200 dans l'eau distillée, par voie sous-cutanée, aux doses suivantes *exprimées en diamidine non substituée.*

N°s 202	.....	0,00125 g. p. 100
203	.....	0,00150 g. p. 100
204	.....	0,0020 g. p. 100
205	.....	0,0030 g. p. 100
208	.....	0,0040 g. p. 100
207	.....	0,0050 g. p. 100

En moins de vingt-quatre heures, tous sont blanchis à l'exception du Rat n° 204 (0,002 g. p. 100) qui présente quelques rares parasites peu mobiles qui disparaissent ensuite.

Rat n° 202 : 0,00125 g. p. 100. Pendant les cent jours qui suivent l'injection thérapeutique, nous ne trouvons pas de parasites de rechute.

Rat n° 203 : 0,00150 g. p. 100. Même résultat.

Rat n° 204 : 0,0020 g. p. 100. Jusqu'au 18 novembre, le sang reste blanchi mais le 22 (quatre-vingt-huitième jour) nous trouvons quelques parasites et l'animal meurt infecté le 25 (quatre-vingt-onzième jour).

Rat n° 205 : 0,0030 g. p. 100. Blanchi jusqu'au 5 octobre, le sang présente d'assez nombreux parasites le 9 (quarante-quatrième jour) et meurt le 12 (quarante-septième jour).

Rat n° 208 : 0,0040 g. p. 100. L'animal reste blanchi durant les cent jours de l'observation.

Rat n° 207 : 0,0050 g. p. 100. Ce Rat meurt le 7 octobre (quarante-deuxième jour) sans avoir jamais présenté de trypanosomes. Il meurt très amaigri, cachectique, ne pesant plus que 55 grammes (poids initial 105 grammes) avec des canines recourbées extérieurement et hypertrophiées; cette distrophie est vraisemblablement à l'origine de la mort, ayant empêché toute alimentation.

Conclusion : Pour un traitement aussi tardif, il faut utiliser une dose sous-cutanée au moins égale à 0,004 g. par voie sous-cutanée pour obtenir une stérilisation de cent jours. Si des doses inférieures blanchissent, elles ne mettent pas forcément à l'abri d'une rechute tardive. La maladie des animaux rechutés est du type suraigu.

Si nous prenons 0,010 g. p. 100 comme dose léthale 100 p. 100, nous avons pour ce dérivé diéthylé un $\frac{C}{T}$ de $\frac{0,004}{0,010} = \frac{1}{2,5}$ encore moins favorable que pour le dérivé diméthylé.

3° Dérivé dicyclohexylé.

Action curative sur *T. equiperdum.*

Expérience n° 31 — 10 juillet 1946.

Infection : Ce jour sont infectés par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum,* onze Rats n°s 130 à 140, pesant de 105 à 130 grammes. Nous pratiquons encore ici un traitement tardif. Le 16 juillet, tous les animaux grouillent de parasites. Nous laissons le Rat n° 140 comme témoin. Il meurt en pleine septicémie le 17 juillet (septième jour).

Traitement : Le 16 juillet (sixième jour) nous traitons les Rats n°s 130 à 139 avec une solution à 1 p. 1000 dans l'eau distillée aux doses suivantes *exprimées en diamidine non substituée :*

N°s 130	: 0,00025 g. p. 100	135	: 0,00150 g. p. 100
131	: 0,00050 g. p. 100	136	: 0,0020 g. p. 100
132	: 0,00075 g. p. 100	137	: 0,0030 g. p. 100
133	: 0,0010 g. p. 100	138	: 0,0040 g. p. 100
134	: 0,00125 g. p. 100	139	: 0,0050 g. p. 100

Trente minutes après l'injection, le Rat n° 132 meurt, vraisemblablement de son infection très virulente. Six heures après, le sang de tous les Rats est encore envahi de parasites. Mais vingt-deux heures après, tous sont blanchis à l'exclusion d'un seul (n° 133 : 0,001 g. p. 100) où nous trouvons quelques rares parasites peu mobiles. Le blanchiment est total le 18 juillet.

Rat n° 130 : 0,00025 p. 100. Blanchi jusqu'au 20, l'animal rechute le 22 juillet (sixième jour après traitement) et meurt en pleine septicémie le 25 (neuvième jour).

Rat n° 131 : 0,00050 g. p. 100. Ce Rat rechute le même jour que le précédent et meurt infecté le 25 (neuvième jour).

Rat n° 133 : 0,001 p. 100. Rechuté le 23 juillet, il meurt grouillant de parasites le 29 juillet (treizième jour).

Rat n° 134 : 0,00125 p. 100. Blanchi jusqu'au 9 août, l'animal meurt le 12 en pleine infection (vingt-septième jour).

Rat n° 135 : 0,0015 p. 100. La rechute apparaît le 23 juillet et la mort le 1er août (seizième jour).

Rat n° 136 : 0,0020 g. p. 100. Le premier parasite est repéré le 2 août et la mort arrive le 8 août (vingt-troisième jour).

Rat n° 137 : 0,0030 g. p. 100. Rechute le 26 juillet ; la mort est constatée le 2 août (dix-septième jour).

Rat n° 138 : 0,0040 g. p. 100. Blanchi jusqu'au 19 août, l'animal présente d'assez nombreux parasites le 23 et meurt le 24 août (trente-neuvième jour).

Rat n° 139 : 0,0050 g. p. 100. Pendant les cent jours que dure l'observation, ce Rat reste blanchi et nous pouvons le considérer comme stérilisé.

Conclusion. — Il faut atteindre la dose de 0,005 g. p. 100 pour obtenir la stérilisation du Rat avec le dérivé dicyclohexylé.

Si nous retenons la dose léthale de 0,030 g. p. 100, nous avons pour ce dérivé un $\frac{C}{T}$ de $\frac{0,005}{0,030} = \frac{1}{6}$.

Les animaux rechutés font tous une maladie suraiguë.

4° Conclusion sur les dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

La substitution de radicaux méthyl ou éthyl sur la fonction amine ou cyclohexyl sur la fonction imine diminue sensiblement l'action trypanocide de ces dérivés. Nous avons vu, d'autre part, que la toxicité est accrue. Aussi considérons-nous comme néfastes au but envisagé, ces substitutions qui augmentent notablement le $\frac{C}{T}$.

CHAPITRE VI.

ÉTUDE DE L'ACTION CURATIVE DU DIAMIDINODIPHÉNOXYHEXANE.

1° Action curative sur *Trypanosoma equiperdum.*

a) Cobaye.

Comme dans nos observations sur le 4.4' diamidinodiphénoxypentane, nous recherchons les variations d'activité trypanocide de l'Hexamidine en fonction de l'ancienneté de l'infection des animaux traités.

α) *Traitement précoce. 6e jour.*

Expérience n° 40 A, 20 août 1946.

Infection : Sept Cobayes mâles à pelage lisse n°s 66 à 72, pesant de 400 à 500 grammes sont infectés par voie sous-cutanée le 20 août, par un million de *T. equiperdum.* Le 26, le sang de tous, à l'exclusion du Cobaye n° 67 présente des parasites (de un par quelques champs à plusieurs par champ, suivant le Cobaye).

Traitement : Le 26 août, six jours après l'infection, les Cobayes sont traités par voie sous-cutanée par une solution d'Hexamidine à 1/200 dans l'eau salée aux doses suivantes :

N°s 66, 0,00025 g. p. 100	69, 0,0010 g. p. 100
67, 0,00050 g. p. 100	70, 0,0015 g. p. 100
68, 0,00075 g. p. 100	71, 0,0020 g. p. 100
	72, 0,0030 g. p. 100

En moins de quarante-huit heures, tous les animaux sont blanchis. Les injections paraissent bien supportées. Toutefois, le 6 septembre se manifeste une escarre au point d'injection chez les Cobayes 71 et 72 (0,002 g. et 0,003 g. p. 100). Les poils se hérissent et le 9 septembre (quatorzième jour) meurt le Cobaye n° 72 après un amaigrissement sensible : de 445 g. à l'infection et 480 au traitement, le poids est tombé à 315 grammes à la mort. On ne trouve pas de parasites lors de l'examen sanguin.

L'escarre du Cobaye n° 71 (0,002 g. p. 100) s'accentue et la nécrose s'approfondit. Dans la cuvette circulaire, formée dans le derme, suinte du pus qui augmente les jours suivants. Toujours blan-

chi, l'animal meurt le 2 octobre trente-sept jours après l'injection thérapeutique. Le poids s'est effondré et de 440 grammes est tombé à 290 grammes à la mort.

Les autres Cobayes survivent à l'injection d'Hexamidine.

Ces deux morts confirment nos observations de toxicité que nous avions située dans ces limites (une mort sur trois à 0,002 g. et une sur deux à 0,003 g. Voir plus haut).

0,00025 g. p. 100, Cobaye n° 66. Le 13 septembre (dix-huitième jour après traitement) apparaissent de rares parasites de rechute. Après une succession de blanchiments et de rechutes, il meurt le 16 décembre, cent douze jours après traitement, après avoir subi une dépilation progressive et étendue du train postérieur et une phase d'abattement dans les quatre derniers jours.

0,00050 g. p. 100, Cobaye n° 67. Le 19 septembre (vingt-quatrième jour), nous trouvons les premiers parasites de rechute et le Cobaye meurt le 14 décembre, cent dix jours après l'injection d'Hexamidine. La même dépilation que chez le précédent atteint ce Cobaye.

0,00075 g. p. 100, Cobaye n° 68. Pendant les cent jours que dure l'observation, le sang de ce Cobaye reste stérile ; le poids passe de 400 à 670 grammes pendant cette période.

0,0010 g. p. 100, Cobaye n° 69. Comme le précédent, le sang de cet animal est stérile pendant les cent jours d'observation ; le poids passe de 480 à 610 grammes.

0,0015 g. p. 100, Cobaye n° 70. Le 11 octobre (quarante-sixième jour), nous trouvons quelques rares parasites de rechute, confirmée les jours suivants ; la mort survient le 14 décembre, cent dix jours après le traitement. A ce moment, toute la moitié postérieure du corps est entièrement dénudée par une dépilation totale.

Conclusions. — Dès 0,00025 g. p. 100, l'Hexamidine exerce par voie sous-cutanée chez le Cobaye infecté par *T. equiperdum* une action trypanocide active. Mais la stérilisation n'est pas obtenue aux doses de 0,00025 et 0,00050 p. 100. Pour cent jours d'observation, seules les deux doses de 0,00075 g. et 0,001 g. p. 100 se révèlent stérilisantes. Mais une chute survient à 0,0015 p. 100. Les doses supérieures sont toxiques.

Chez les animaux rechutés, on observe cependant un allongement sensible de la période d'état qui passe respectivement à 94, 86 et 64 jours d'autant abrégée que la dose est élevée, comme pour le 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

β) *Traitement semi-tardif. 25e jour.*

Expérience n° 40 B. 20 août 1946.

Infection. — Ce jour, nous infectons par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum*, deux Cobayes mâles n°s 73 et 74, pesant 510 et 325 grammes.

A l'examen du 2 septembre, tous deux présentent des parasites dans leur sang périphérique.

Traitement. — Le 14 septembre (vingt-cinquième jour), ils reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1/200 dans l'eau salée, aux doses de :

N°s 73 ..... 0,0015 g. p. 100
74 ..... 0,0020 g. p. 100

En moins de quarante-huit heures, les deux Cobayes sont blanchis.

Cobaye n° 73, 0,0015 g. p. 100. — Le 18 septembre (trente-quatrième jour après traitement), nous trouvons un parasite de rechute. Celle-ci se confirme les jours suivants et l'animal meurt le 18 novembre, soixante-cinq jours après l'injection d'Hexamidine. A la mort, l'animal pèse encore 500 grammes et sa rate hypertrophiée 2,97 g.

Cobaye n° 74. — Blanchi jusqu'au 7 décembre, le sang présente un parasite de rechute à l'examen du 13 (quatre-vingt-dixième jour). La non stérilisation sanguine se confirme les jours suivants et l'animal meurt le 5 février 1947 après avoir subi une large dépilation postérieure et un gros œdème des bourses. La maladie s'est étendue sur cent quarante-quatre jours, la plus longue de celles observées par nous. Toutefois, la période d'état n'est pas exceptionnelle (cinquante-quatre jours).

Conclusions. — Appliquée vingt-cinq jours après l'infection à *T. equiperdum*, l'Hexamidine par voie sous-cutanée, aux doses de 0,0015 g. et 0,0020 g. p. 100 n'est pas curative. La rechute est tardive, ce qui justifie une fois encore la longueur des observations de toute trypanosomose expérimentale.

Les périodes d'état sont ici de trente et un et cinquante-quatre jours.

γ) *Traitement tardif.*

Expérience 40 B. 20 août 1946.

Infection. — En même temps que les précédents, nous injectons les deux Cobayes mâles n°s 75 et 76 (345 et 615 grammes) avec un million de *T. equiperdum*.

Traitement : 44 et 46 jours. 0,002 g. p. 100 en deux doses à quarante-huit heures d'intervalle.

Cobaye n° 75. — Alors que le sang présente quelques parasites par champ, nous injectons le 3 octobre (quarante-quatrième jour) une solution à 1/200 d'Hexamidine, par voie sous-cutanée, à la dose de 0,001 g. p. 100. Le surlendemain, l'animal est blanchi et nous lui renouvelons l'injection, soit au total 0,002 g. p. 100.

Pour une observation de cent jours, l'animal ne présente pas de parasites de rechute et le poids passe de 380 grammes au début du traitement à 570 grammes. Aucune lésion ne suit les injections.

60e, 62e, 64e jours : 0,003 g. p. 100 en trois doses, chacune à quarante-huit heures d'intervalle.

Cobaye n° 76. — Alors que le sang est infecté de nombreux parasites (plus de 20 par champ) l'animal reçoit une solution d'Hexamidine à 1/200 par voie sous-cutanée le 19 octobre (soixantième jour de maladie) à la dose de 0,001 g. p. 100. Le surlendemain 21, le sang est blanchi et nous injectons la même dose ainsi que le 23.

Le 5 novembre, le Cobaye rechute (treizième jour après la fin du traitement). Après une succession de crises lytiques et de phases d'infection, il meurt le 6 janvier 1947 (soixante-quinzième jour après traitement). A ce moment, il présente un gros œdème des bourses et de la dépilation dorso-lombaire.

Conclusion : Malgré l'état avancé de l'infection, l'Hexamidine permet de stériliser à 0,002 g. p. 100 en deux doses fractionnées à quarante-huit heures d'intervalle par un traitement sous-cutané, appliqué quarante-quatre jours après l'infection.

Mais appliquée soixante jours après infection chez un autre animal, la dose de 0,003 g. p. 100 n'est pas curative malgré son fractionnement.

La période d'état dans ce dernier cas est de soixante-deux jours.

Expérience n° 23, 5 juillet 1946.

57e jour, Cobaye n° 48.

Infection. — Nous inoculons à ce Cobaye mâle, de type angora, à pelage en rosette une masse infectante de 1 million de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée.

Dès le 8 juillet (troisième jour), le sang présente des parasites, puis une suite de périodes de crises lytiques et de poussées infectantes. Le poids passe de 470 grammes à 540 le 20 août et amorce une baisse à 500 le 31 août.

Traitement. — Ce 31 août, cinquante-sept jours après l'infection, nous injectons une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans l'eau distillée, par voie sous-cutanée, à la dose de 0,002 g. p. 100.

Dans la suite des cent jours d'observation, nous ne trouvons pas de parasites de rechute.

Conclusion. — Appliqué cinquante-sept jours après l'infection, 0,002 g. p. 100 d'Hexamidine est stérilisant par voie sous-cutanée.

Conclusions générales du traitement du Cobaye.

Le dichlorhydrate de 4.4' diamidinodiphénoxyhexane a une action trypanocide nette sur *T. equiperdum* du Cobaye. Mais la drogue n'agit pas avec la régularité de son homologue inférieur. Le tableau ci-joint rend compte d'ailleurs des doses stérilisantes, encadrées quelquefois par des rechutes. Il est à noter

par contre que l'Hexamidine permet une cure stérilisante dans des traitements tardifs où échoue le 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Durée des périodes d'incubation et d'état en fonction des doses.

Hexamidine	Incubation		Etat	
	Précoce	Semi-tardif et tardif	Précoce	Semi-tardif et tardif
0 g.,00025 p. 100.....	18		94	
0 g.,00050 p. 100.....	24		86	
0 g.,00075 p. 100.....	∞			
0 g.,0010 p. 100.....	∞			
0 g.,0015 p. 100.....	46	34	64	31
0 g.,0020 p. 100 en une dose.....		90 ∞		54
0 g.,0020 p. 100 en deux fractions.....		∞		
0 g ,0030 p. 100 en trois fois		13		62

Tableau récapitulatif du traitement.

Infection	Traitement s./c.	0g.,00025	0,00050	0,00075	0,0010	0,0015	0,0020 dose unique	0,0020 2 fractions	0,003 3 fractions
Un million s./c.	6e jour	+	+	0	0	+			
	25e »					+	+		
	44e »							0	
	57e »						0		
	60e »								+

O = Stérilisation.
\+ = Rechute.

b) Rat.

Comme dans nos expériences précédentes, nous voulons comparer l'activité thérapeutique à divers stades de l'infection. Mais chez le Rat où la maladie est aiguë, nous ne pouvons nous fier aux jours, mais seulement à la richesse sanguine en trypanosomes au moment des divers traitements.

1°) *Septicémie massive : Expérience n° 24 — 12 juin 1946.*

Infection. — Ce jour, douze Rats n°s 56 à 67, de 90 à 120 grammes reçoivent par voie sous-cutanée, 1 million de *T. equiperdum* (virus de la Souris). Le 17 juin (cinquième jour) tous sont grouillants de parasites (plus de 300.000/mm³) et ce jour là meurent trois d'entre eux (N°s 61, 66, 67) dans le courant de la journée.

Traitement. — Le matin du 17 juin, 10 heures, nous injectons par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 1000 dans l'eau distillée aux doses suivantes :

N°s 56	0,00025 g. p. 100	62 - 63...	0,0010 g. p. 100
57 - 58...	0,00050 g. p. 100	64 - 65...	0,00125 g. p. 100
59 - 60...	0,00075 g. p. 100		

0,00025 g. p. 100 Rat n° 56.

A 17 heures, le sang est toujours grouillant de parasites et le 18 au matin, le Rat est mort.

0,00050 g. p. 100 — Rat n° 57.

A 17 heures, le sang ne présente plus que quelques parasites par champ et est blanchi le 18 jusqu'au 9 juillet. Le 11 juillet (vingt-quatrième jour après traitement), la rechute apparaît et la mort survient le 16 juillet (vingt-neuvième jour).

Rat n° 58. — Encore très riche en trypanosomes à 17 heures, le sang est blanchi le 18 mais est à nouveau infecté le 1er juillet (quatorzième jour). Une courte période de blanchiment du 3 au 7 précède une nouvelle phase d'infection qui conduit à la mort le 16 juillet (vingt-neuvième jour).

0,00075 g. p. 100 — Rat n° 59.

Encore largement infecté le 18, le sang n'est blanchi que le 19, mais l'animal meurt le 21, amaigri (70 grammes au lieu de 100).

L'autopsie révèle la présence de trois trématodes intestinaux à rostre armé et à œufs hexacanthes.

Rat n° 60. — Blanchi jusqu'au 29 juillet, le sang présente un parasite de rechute le 1er août (quarante-cinquième jour) ainsi que le lendemain, et jusqu'au 30 août est à nouveau blanchi. Il est alors surinfecté et prend l'infection.

0,0010 g. p. 100 — Rat n° 62. — Blanchi en quarante-huit heures, l'animal rechute le trentième jour (17 juillet) et meurt infecté le 19 (trente-deuxième jour).

Rat n° 63. — La rechute apparaît également le trentième jour, mais un blanchiment du 19 au 23 précède la multiplication agonique mortelle le 31 juillet (quarante-quatrième jour).

0,00125 g. p. 100 — Rat n° 64. — Rechuté le 22 juillet (trente-cinquième jour), l'animal meurt infecté le 31 juillet (quarante-quatrième jour).

Rat n° 65. — Rechuté le 17 juillet (trentième jour) et blanchi le 18, une nouvelle poussée infectante le tue le 25 (trente-huitième jour).

Expérience n° 38 — 25 juillet 1946.

Infection. — Douze Rats n°s 180 à 191, de 85 à 95 grammes, sont infectés par voie sous-cutanée, par un million de *T. equiperdum*. Le 31, tous grouillent de parasites (plus de 300.000 par mm³) et sont traités. Nous conservons comme témoin le Rat n° 191 qui meurt le 5 août (onzième jour).

Traitement : Les Rats traités le 31 juillet (sixième jour) reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution de 1 p. 1000 d'Hexamidine dans l'eau distillée aux doses croissantes de 0,00125 g. p. 100 à 0,005 g. p. 100 ; huit heures plus tard, la majorité est blanchie et tous le sont le lendemain matin.

0,00125 g. p. 100 — Rat n° 180. — Blanchi en moins de huit heures, alors que le sang comportait au moment du traitement 420.000 parasites par mm³, ce Rat rechute le 30 août (trentième jour après injection d'Hexamidine) et meurt grouillant de parasites le 10 septembre (quarante-et-unième jour).

0,0015 g. p. 100 — Rat n° 181, Rat n° 182. — Tous deux restent blanchis pendant les cent jours qui suivent le traitement.

0,0020 g. p. 100 — Rat n° 183. — La rechute sanguine apparaît le 12 septembre (quarante-troisième jour) et la mort en pleine infection le 14 (quarante-cinquième jour).

Rat n° 184. — Rechuté le 16 septembre (quarante-septième jour), l'animal meurt le 18 (quarante-neuvième jour).

0,0025 g. p. 100 — Rat n° 185.

Blanchi jusqu'au 24 octobre, l'animal est retrouvé mort, en partie dévoré le 28 (quatre-vingt-neuvième jour). Un frottis de sang cardiaque permet de trouver de très nombreux restes de trypanosomes.

Rat n° 186. — Le 16 septembre (quarante-septième jour), la rechute apparaît suivie de mort rapide le 23 (cinquante-quatrième jour).

0,003 g. p. 100 — Rat n° 187 — Rat n° 188.

Durant les cent jours d'observation, les deux Rats restent stériles.

0,004 g. p. 100 — Rat n° 189. — De rares parasites de rechute apparaissent le 18 septembre (quarante-neuvième jour) ; le 20, le sang est blanchi, mais une nouvelle rechute entraîne la mort le 2 octobre (soixante-troisième jour).

0,005 g. p. 100 — Rat n° 190. — Le Rat reste blanchi pendant les cent jours de l'observation.

2°) *Septicémies légères — Expérience n° 61 — 18 novembre 1946.*

Nous infectons ce jour, par voie sous-cutanée, onze Rats femelles n°s 312 à 321 et n° 279 (ce dernier servant de témoin) pesant de 95 à 115 grammes, par un million de *T. equiperdum*. Le 23 novembre, (cinquième jour) neuf de ces Rats sont positifs et

présentent de deux à cent parasites par dix champs. Deux autres sont encore sans parasites apparents. Le témoin meurt infecté le 30 novembre (douzième jour).

Traitement. — Le 23 novembre, les Rats 312 à 321 reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1/200 dans l'eau distillée, aux doses de :

N°s 312..	0,0010 g. p. 100	317..	0,004 g. p. 100
313..	0,0015 g. p. 100	318..	0,005 g. p. 100
314..	0,0020 g. p. 100	319..	0,006 g. p. 100
315..	0,0025 g. p. 100	320..	0,007 g. p. 100
316..	0,0030 g. p. 100	321..	0,008 g. p. 100

Pendant les soixante-trois jours suivants, aucune rechute ne se manifeste.

Nous observons pendant cent jours les Rats 312 à 316 (0,001 g. p. 100 à 0,003 g. p. 100) et le sang de tous reste stérile. Les Rats traités par des doses supérieures sont surinfectés et prennent tous l'infection, comme nous le verrons au chapitre des surinfections.

Expérience n° 62 — 18 novembre 1946.

Infection. — Ce jour, trois Rats reçoivent par voie sous-cutanée un million de *T. equiperdum*. Le n° 279 est conservé comme témoin qui est positif le 23 et meurt infecté le 30 (douzième jour).

Traitement. — Les deux Rats n°s 322 (105 grammes) et 323 (100 grammes) qui sont très peu infectées (moins d'un parasite par champ) sont traitées par voie sous-cutanée avec 0,005 g. p. 100 d'Hexamidine, en solution à 1/200 dans l'eau distillée. Blanchies, elles ne présentent pas de parasites de rechute pendant les cent jours d'observation.

Expérience n° 57 — 25 octobre 1946.

Cette expérience dont nous retrouverons le détail au chapitre des surinfections, permet de confirmer l'action trypanocide de l'Hexamidine par voie sous-cutanée.

Infection. — Seize Rats n°s 287 à 302, sont infectés par voie sous-cutanée, par un million de *T. equiperdum*. Faiblement positifs le 30, ils le sont sensiblement plus le 31, la trypanémie apparente variant de moins de 1 par champ à une vingtaine.

Traitement. — Le 31 octobre, la moitié est traitée par voie sous-cutanée, par 0,0025 g. p. 100 et l'autre moitié par 0,005 g. p. 100 d'Hexamidine en solution à 1/200 dans l'eau distillée.

Tous sont blanchis. D'autre part, les observations concluent à une durée de blanchiment minimum de quinze jours (N°s 287 à 290), de trente jours (291 à 294), de quarante-quatre jours (N°s 295 à 298) et de soixante jours (N°s 299 à 302). On ne peut conclure au-delà de ces limites puisque, comme nous le verrons plus loin, ils furent alors surinfectés.

Expérience n° 70 — 25 janvier 1947.

Infection. — Ce jour, nous infectons par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum,* cinq Rats mâles n°s 408 à 412, de 85 à 105 grammes.

Le n° 408, conservé comme témoin, meurt le 29 en pleine septicémie, soit en quatre jours.

Traitement. — Le 28 janvier (troisième jour), alors que les parasites sont de un à dix par champ, nous injectons une solution d'Hexamidine à 1 p. 1000 sous la peau, aux doses suivantes : N°s 409 : 0,00025 g. p. 100 ; 410 : 0,0005 g. p. 100 ; 411 : 0,00075 g. p. 100 et 412 : 0,001 g. p. 100. Le lendemain, tous sont blanchis.

0,00025 g. 100. — Rat n° 409. — Rechuté le 6 février (9e jour), il meurt le 17 février (20e jour).

0,00050 g. p. 100. — Rat n° 410. — Rechuté l'animal meurt également le 17 février (20e jour).

0,00075 g. p. 100. — Rat n° 411. — Rechuté l'animal meurt le 19 février (22e jour).

0,001 g. p. 100. — Rat n° 412. — Rechuté le 19 février, l'animal meurt le 24 février (27e jour).

Conclusions de l'action curative chez le Rat.

Le 4.4' diamidinodiphénoxyhexane se révèle un agent trypanocide actif contre *T. equiperdum* chez le Rat traité par voie sous-cutanée.

Sur des animaux peu infectés, les doses inférieures ou égales à 0,00075 g. p. 100 blanchissent mais ne stérilisent pas. A 0,001 g. p. 100, on a une guérison sur deux ; à partir de 0,0015 g. p. 100, nous n'avons plus de rechute.

Par contre, sur des Rats très infectés, il faut également injecter 0,0015 g. p. 100 pour obtenir une stérilisation mais des doses supérieures jusqu'à 0,004 g. p. 100 ne mettent pas forcément à l'abri de toute rechute, tardive d'ailleurs, (jusqu'à quatre-vingt-six jours). Nous avions déjà observé une telle irrégularité chez le Cobaye. Tous les animaux rechutés font une maladie apparente aiguë, rarement marquée par une courte crise lytique.

Le tableau ci-joint résume les observations précédentes.

Tableau récapitulatif du traitement du Rat par l'Hexamidine en mg. p. 100 g.

Traitement		0,25	0,50	0,75	1	1,25	1,50	2	2,50	3	4	5	6	7	8
Précoce	Résultat....	+	+	+	0 +		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Maladie.....	20	20	22	27										
Tardif	Résultat....	+	+	+	++	+++	00	++	++	00	+	0			
	Incubation..	non blanc	24-14	45	30-30	35-30-35		43-47	86-47		49				
	Etat.....		14-15		2-14	9- 8-11		2- 2	3- 7		14				

O = Stérilisation.
\+ = Rechute.

c) Lapin.

Nous n'avons utilisé pour l'Hexamidine que la voie sous-cutanée après infection tardive sous-cutanée, par *T. equiperdum.*

Expérience n° 30 — 20 juillet 1946.

Lapin n° 28. — Ce lapin mâle de 2100 grammes fut infecté, par voie sous-cutanée, le 22 juillet, par deux millions de *T. equiperdum.* Après la suite des signes cliniques habituels (œdème de la tête et des organes génitaux, dépilation et suppuration oculaires et température en plateau à plus de 40°), ce Lapin est traité par 0,010 g./kg. d'Hexamidine en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée, le 5 septembre (quarante-cinquième jour). Malheureusement, l'observation est arrêtée dès le 10 car l'animal succombe à une infection pleuropulmonaire. L'autopsie en effet révèle un pus abondant, localisé sur le poumon droit creusé d'ulcères. Une flore très riche en nombreux diplocoques est trouvée sur le frottis de pus.

Un passage sous-cutané de sang cardiaque n'est pas concluant pour l'action de l'Hexamidine car le Rat qui reçoit 7 cm³ de sang meurt dès le lendemain et les deux Souris qui avaient reçu chacune 2 cm³ succombent également, en six jours, sans présenter de parasites.

Lapin n° 24.

Infection. — Ce Lapin mâle de 2100 grammes est infecté par voie sous-cutanée par deux millions de *T. equiperdum* le 20 juillet 1946.

Le 20 août, les bourses sont œdématiées et portent des escarres sèches ; le fourreau est également œdématié. Le 4 septembre, toute la narine supérieure et le dessus du nez sont épilés. L'œil droit suppure. Les deux testicules sont dans une coque durcie sclérosée.

La température atteint 40° dès le 26 juillet (sixième jour) et 40,3° le 27. Après un court répit, le plateau classique au-dessus de 40° est atteint. Le poids passe de 2100 le 20 juillet à 1780 g. le 5 septembre.

Traitement. — Le 5 septembre (quarante-septième jour), ce Lapin reçoit, par voie sous-cutanée, 0,02 g./kg. d'Hexamidine en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée.

Ce même jour, la bourse gauche laisse suinter un faible écoulement de sang qui s'accentue les jours suivants et le 11 (sixième jour après traitement), il se produit une large éventration de l'enveloppe testiculaire gauche avec hémorragies. Celles-ci s'atténuent le 12 ; le 14, il y a perte du testicule. Le dessus du nez dépilé porte le 11 quelques petites croûtes. La zone de dépilation s'étend et le 24, gagne les deux oreilles et tout le museau supérieur.

Mais ces divers symptômes régressent à partir de ce moment et le 7 octobre (trente-deuxième jour), les squames et les croûtes du museau et des oreilles sont tombés, les poils repoussent et il n'y a

plus de zone d'œdème. Toutefois, cette amélioration clinique est de courte durée puisque le 11 octobre (trente-sixième jour) nous observons un très léger œdème des narines qui s'accentue. La dépilation réapparaît sur le museau et le 30 octobre (cinquante-cinquième jour) se reforment des croûtes. Le 12 novembre, la dépilation atteint toute la partie supérieure du museau et le nez est très œdématié le 14. L'aggravation est rapide et le 18 novembre (soixante-quatorzième jour) l'animal succombe à sa rechute.

La courbe de température à 40,3° le jour du traitement tombe le lendemain à 39,4° et reste basse encore quelque temps (38,9° le 9 septembre, 38,6° le 10). Mais une poussée à 40° le 24, 39,8° le 25 et 40° le 27 précède jusqu'au 11 octobre une phase de température normale et malgré quelques sautes brusques (40,1° le 30 octobre) la courbe reste basse, par exemple à 39,1° le 4 novembre ; 39,2° le 12 ; 39,6° le 14.

Le poids, après le traitement, s'était légèrement relevé, passant de 1780 à 2000 le 24 septembre et 2150 grammes le 9 octobre. Puis un nouvel amaigrissement accompagne la rechute et la mort survient à 1780 grammes. A l'autopsie, la rate pèse 1,55 g.

Expérience n° 52 — 12 octobre 1946.

Infection. — Ce jour, nous infectons par voie sous-cutanée, trois Lapins mâles, n°s 33, 34, 35 avec deux millions de *T. equiperdum*.

Le Lapin n° 33 a déjà été décrit plus haut au chapitre de la maladie du Lapin. Rappelons simplement qu'en cinq jours, l'infection se montrait positive et que la mort survient après quatre-vingt-douze jours de maladie.

Traitement : 34e jour.

Lapin n° 34. — Après que ce Lapin ait montré les signes cliniques habituels de l'infection à *T. equiperdum* (d'abord œdème du fourreau puis de la base des oreilles, du pourtour des yeux avec dépilation et escarres, enfin bourses œdématiées et sclérosées), celui-ci est traité par voie sous-cutanée par 0,010 g./kg. d'Hexamidine en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée le 15 novembre 1946, trente-quatre jours après l'infection.

Ce même jour, les lésions génitales s'accentuent et se déclenche une petite hémorragie de la bourse droite tandis que des croûtes paraissent sur les lèvres supérieures. Il semble les jours suivants se dessiner une légère amélioration des symptômes généraux. Le 20 (cinquième jour), l'œdème du fourreau est en nette régression bien que celui qui atteint la paupière supérieure de l'œil gauche se maintienne. Mais progressivement, l'importance des lésions s'accentue et le 28 (treizième jour), la dépilation s'étend sur le côté gauche du museau et autour des paupières ; l'œdème du fourreau reprend. Le 5 décembre (vingtième jour), on observe une atrophie de la bourse droite, accompagnée d'une large dépilation ventrale périphérique. De même, la chute des poils s'accentue sur le museau et l'œdème apparaît à la base des oreilles.

Le 14 décembre (vingt-neuvième jour), la desquamation sur le

museau s'aggrave et celui-ci laisse suinter quelques gouttes de liquide sanguinolent formant croûte. Le 18, tout ce cortège de signes cliniques s'étend ; une ponction de l'œdème de la base de l'oreille ne révèle pas de trypanosomes à l'examen direct. Pendant les quatre mois qui suivent, la fiche clinique ne marque plus d'aggravation, mais la dépilation du museau et sa desquamation persistent ainsi que l'œdème et les croûtes à la base des oreilles. Cette maladie chronique ne nuit pas au développement du poids qui passe de 2700 grammes à 3900 le 18 avril. Ce jour, nous l'utilisons pour un autre ordre de recherches.

Lapin n° 35.

En même temps que le précédent, alors que les signes cliniques sont à peu près identiques, ce Lapin est traité le 15 novembre 1946, trente-quatre jours après l'infection.

Il reçoit, par voie sous-cutanée, 0,03 g./kg. d'Hexamidine en solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée.

A ce moment, en plus de l'œdème de la paupière gauche et de la dépilation périoculaire, existe une assez grosse escarre dorsale qui saigne légèrement. Dans les premiers jours qui suivent l'injection d'Hexamidine, cette escarre a tendance à sécher et une croûte se forme à partir du centre. Mais ensuite elle s'accentue, saigne à nouveau puis suppure à partir du 5 décembre (vingtième jour). La dépilation gagne le dessus du museau et l'oreille droite. Au fur et à mesure que l'escarre s'agrandit et décolle le derme, l'animal perd du poids. De 2800 grammes à l'infection et 2750 le jour du traitement, la courbe de poids n'a pas cessé de baisser et passe, par exemple, à 2350 grammes le 7 décembre, 2070 grammes le 21 décembre et 1570 grammes le 2 janvier 1947.

Ce dernier jour, la fièvre tombe, de plus de 40° précédemment à 38° ; le Lapin, très cachectique est en décubitus latéral et ne peut plus se tenir sur les pattes. Avant la mort, nous faisons un examen sanguin. Par ponction cardiaque, nous prélevons 11 cm³ de sang que nous passons par voie intrapéritonéale à deux Rats (5 cm³ chacun) et deux Souris (0,50 cm³ chacune).

Le 9 janvier (septième jour après passage), une Souris est positive et meurt grouillante de parasites le 11. L'autre Souris et les deux Rats sont à leur tour infectés et meurent en pleine septicémie le 12 (onzième jour de passage). La formule sanguine de ce sang cardiaque est :

Polynucléaires	neutrophiles	81 p. 100
»	éosinophiles	0
»	basophiles	1,9
Lymphocytes	.....	13,3
Monocytes	.....	3,8

Nous trouvons en même temps quelques rares hématies nucléées mais pas de parasites. Les monocytes sont en phagocytose active et contiennent de nombreux germes microbiens.

La mort de ce Lapin survient dans cette même journée du 2 janvier, soit quarante-huit jours après traitement.

L'autopsie révèle l'importance de la lésion cutanée dorsale. Sous l'épiderme et le derme s'étale une importante vésicule remplie de pus très épais. Les organes de la cavité générale paraissent normaux ; la rate pèse 0,90 g.

Les poumons, par contre, sont en pleine dégénérescence tissulaire, sans consistance et exsangues.

Conclusions sur le traitement du Lapin.

Pas plus à 0,01 g. qu'à 0,02 g. ou 0,03 g./kg., l'Hexamidine par voie sous-cutanée n'est capable de stériliser, ni même d'enrayer sérieusement la trypanosomose à *T. equiperdum* du Lapin, traité tardivement.

d) *Tableau récapitulatif de l'action curative par voie sous-cutanée contre* T. equiperdum *du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane.*

Date du traitement	Cobaye g. p. 100		Septicémie au moment du traitement	Rat g. p. 100		Lapin g./kg.
	Dose curative (1)	C/T		Dose curative	C/T	
Précoce (6e jour)	0,00075	1/4	Légère	0,0015	1/10	Pas de guérison obtenue
Tardif (57e jour)	0,002	1/1,5	Forte.....	0,0015 (1)	1/10	

(1) On peut observer des rechutes à des doses supérieures.

2) Action curative sur *Trypanosoma brucei.*

Nous comparons l'action trypanocide de l'Hexamidine par voie sous-cutanée chez le Rat infecté par nos deux souches de *T. brucei* dont nous avons déjà montré quelques différences réactionnelles et morphologiques.

Expérience n° 43 — 29 août 1946.

Infection. — Ce jour, nous infectons huit Rats n°s 209 à 216 par un million de *T. brucei* souche Londres, par voie sous-cutanée et huit Rats n°s 217 à 224 par un million de *T. brucei* souche Institut Pasteur. Le poids de ces animaux oscille de 80 à 140 grammes. Le 2 septembre, tous sont largement infectés, mais la richesse trypanémique est quelque peu supérieure pour la souche Pasteur.

Traitement. — Ce 2 septembre (quatrième jour) nous traitons tous les Rats à l'exclusion des n°s 216 (*T. brucei* Londres) qui

meurt en pleine infection le 16 septembre (dix-huitième jour) et 224 (*T. brucei* Pasteur) qui meurt en pleine infection le 6 septembre (huitième jour).

Nous leur injectons une solution d'Hexamidine à 1 p. 1000 dans l'eau distillée, par voie sous-cutanée.

0,0005 g. p. 100 n° 209 Londres.

Blanchi en moins de douze heures, ce Rat rechute le 9 septembre (septième jour) et meurt infecté le 24 (vingt-deuxième jour).

N° 217 Pasteur.

Blanchi en trente-six heures, il rechute le 23 (vingt-et-unième jour) et meurt le 5 octobre (trente-troisième jour).

0,00075 g. p. 100 n° 210 Londres.

Blanchi en moins de douze heures, la rechute a lieu le 11 septembre (neuvième jour) et l'infection est mortelle le 21 octobre (quarante-neuvième jour) après trois crises lytiques.

N° 218 Pasteur.

Rechuté le 24 octobre (cinquante-deuxième jour) puis blanchi jusqu'au 26 novembre, le Rat meurt infecté le 12 décembre (cent unième jour).

0,0010 g. p. 100 n° 211 Londres.

Rechuté le 10 septembre (huitième jour) le sang est sujet à une période de crise lytique blanchissante du 11 au 15. Une rechute entraîne la mort le 27 septembre (vingt-cinquième jour).

N° 219 Pasteur.

L'animal reste stérile pendant les cent jours d'observation.

0,0015 g. p. 100 n° 212 Londres.

Rechuté le 16 (quatorzième jour) l'animal succombe en pleine infection après deux rémissions sanguines le 11 octobre (trente-neuvième jour).

N° 220 Pasteur.

Le Rat reste blanchi durant les cent jours suivants.

0,0020 g. p. 100 n° 213 Londres.

Rechute le 16 (quatorzième jour) et mort en septicémie après deux périodes de blanchiment, le 26 octobre (cinquante-quatrième jour).

N° 221 Pasteur.

L'animal reste stérile pendant les cent jours d'observation.

0,0030 g. p. 100 n° 214 Londres.

L'animal est retrouvé mort le 16 septembre (quatorzième jour) mais son sang présente sur frottis de très nombreux débris de trypanosomes.

N° 222 Pasteur.

L'animal dont l'infection était très avancée n'a pu être blanchi et est mort en moins de quarante-huit heures. Une goutte de son

sang passé par voie intrapéritonéale vingt-quatre heures après l'injection était encore infectante pour la Souris, ce qui confirme l'action trypanocide relativement lente des diamidines.

0,0040 g. p. 100 n° 215 Londres.

La rechute paraît le 30 septembre (vingt-huitième jour) et la mort le 23 octobre (cinquante et unième jour) après quelques courtes crises lytiques.

N° 223 Pasteur.

L'animal reste blanchi pendant les cent jours de l'observation.

Conclusions. — La virulence de *T. brucei* (souche Pasteur) est plus aiguë et en quatre jours, la trypanémie est plus accentuée que pour la souche Londres.

L'Hexamidine, par voie sous-cutanée, blanchit en moins de douze heures les Rats infectés par la souche anglaise et en moins de quarante-huit heures, ceux de la souche Pasteur. Mais de 0,00050 g. à 0,004 g. p. 100, l'Hexamidine n'est pas curative pour la souche anglaise beaucoup plus résistante, alors que dès 0,001 g. p. 100, les Rats infectés par *T. brucei* Pasteur sont stérilisés définitivement.

Les animaux rechutés font quelquefois une maladie relativement allongée.

N'y a-t-il pas un rapport entre le stade d'infection, la vitesse de blanchiment et le pouvoir curatif de l'Hexamidine ?

Tableau de l'activité curative de l'Hexamidine chez le Rat infecté par T. brucei.

Souche		Hexamidine en mg. p. 100 g.						
		0,50	0,75	1	1,50	2	3	4
Londres.	Résultat.....	+	+	+	+	+	+	+
	Incubation	7	9	8	14	14	14	28
	Etat.....	15	40	17	25	40		23
Pasteur..	Résultat.....	+	+	0	0	0		0
	Incubation	21	52					
	Etat.....	12	46					

0 = Stérilisation.
\+ = Rechute.

Ceci nous donne donc, pour la souche Pasteur, un $\frac{C}{T}$ de $\frac{0,001}{0,020} = \frac{1}{20}$ alors que pour la souche anglaise, il est supérieur à : $\frac{0,004}{0,020} = \frac{1}{5}$.

3°) Action curative sur *T. evansi* du Cobaye.

Lors de l'étude de l'action thérapeutique curative du 4.4' diamidinodiphénoxypentane sur le *T. evansi* du Cobaye (voir plus haut), nous avons vu qu'à 0,0005 g. p. 100 par voie sous-cutanée, la stérilisation est possible.

Ici, nous trouvons une action trypanocide inférieure.

Expérience 54. — 17 octobre 1946.

Infection. — Six Cobayes mâles n°s 92 à 97 reçoivent par voie sous-cutanée, un million de *T. evansi*. Le Cobaye n° 97, témoin d'infection, positif en six jours, meurt grouillant de parasites le 14 novembre, vingt-huit jours après l'infection. Sa courbe de poids est montée de 325 à 375 grammes.

Traitement. — Les cinq Cobayes n°s 92 à 96 reçoivent, par voie sous-cutanée, le 23 octobre (sixième jour) une solution à 1/200 dans l'eau distillée d'Hexamidine aux doses de :

N°s 92..	0,00050	g. p. 100.....	290 g.
93..	0,001	g. p. 100.....	435 g.
94..	0,0015	g. p. 100.....	360 g.
95..	0,0020	g. p. 100.....	340 g.
96..	0,0025	g. p. 100.....	370 g.

Au moment du traitement, l'infection est apparente chez les trois Cobayes n°s 93, 94 et 96 en plus du témoin.

0,0005 g. p. 100 n° 92. — Ce Cobaye présente le 15 novembre (vingt-troisième jour après traitement) quelques très rares parasites de rechute qui se multiplient et entraînent la mort le 16 décembre en pleine infection cinquante-quatre jours après traitement.

0,001 g. p. 100 n° 93. — Blanchi en moins de quarante-huit heures, ce Cobaye rechute le 15 novembre (vingt-troisième jour) mais la septicémie reste extrêmement légère, difficile à vérifier même, et le sang paraît blanchi le 18 décembre, mais la rechute est inéluctable puisque l'animal meurt infecté le 8 janvier 1947, soixante-dix-sept jours après le traitement.

Le poids est passé de 410 grammes à l'infection à 435 au traitement, 560 grammes au début de la crise lytique et à 520 g. à la mort.

0,0015 g. p. 100 n° 94. — Blanchi en moins de quarante-huit heures cet animal reste stérile pendant les cent jours de l'observation.

0,0020 g. p. 100 n° 95. — L'observation sur ce Cobaye est interrompue précocement le 15 novembre (vingt-troisième jour) par sa mort. Jusque là, le sang est resté sans parasites y compris l'examen du sang cardiaque dès l'autopsie. L'animal présentait depuis trois jours de la parésie du train arrière, sa température s'était affaissée (37°9 le 12 novembre par exemple) et le poids était tombé de 340 g. à 230 g. le jour de la mort.

Rappelons que dans nos expériences de toxicité, nous avions eu une mort sur trois à cette dose de 0.002 g. p. 100.

0,0025 g. p. 100 n° 96. — Blanchi en moins de quarante-huit heures, cet animal le reste durant toute l'observation.

Conclusion. — L'injection sous-cutanée d'Hexamidine au Cobaye infecté par *T. evansi* ne met pas à l'abri des rechutes à 0,0005 g. et 0,001 g. p. 100. Il faut atteindre 0,0015 g. p. 100 pour obtenir ce résultat, soit trois fois plus que pour la diamidine dérivée du pentane.

CHAPITRE VII.

ETUDE DE L'ACTION CURATIVE DES DÉRIVÉS SUBSTITUÉS DU DIAMIDINODIPHÉNOXYHEXANE.

1°) Etude de l'action du dérivé tétraméthylé sur la trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat.

Expérience n° 26. — 20 juin 1946.

Infection : Ce jour, nous infectons dix Rats n^{os} 78 à 87 par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum*. Le 24, un seul est positif et le 25, l'infection est générale sauf un. Le 26 (sixième jour), la septicémie de tous, sauf un, est très avancée (plus de 200.000 par mm^3) et nous effectuons le traitement. Nous gardons deux Rats comme témoins, les n^{os} 85 et 87 qui meurent en pleine infection le 1er juillet (onzième jour).

Traitement : Le 26 juin (sixième jour), nous traitons avec une solution à 1 p. 1.000 dans l'eau distillée aux doses suivantes, toujours exprimées en *Hexamidine :*

N^{os} 78..	0,00025 g. p. 100	Poids des Rats :	100 g.
79-80..	0,00050 g. p. 100		95-115 g.
81-82..	0,00075 g. p. 100		80-100 g.
83-84..	0,00100 g. p. 100		125- 95 g.
86..	0,00125 g. p. 100		100 g.

Tous sont blanchis en moins de vingt-quatre heures.

0,00025 g. p. 100 n° 78. — Quelques rares parasites de rechute apparaissent le 4 juillet (huitième jour après traitement) et la mort en pleine septicémie le 8 juillet (douzième jour).

0,00050 g. p. 100 n° 79. — La rechute se manifeste le 8 juillet (douzième jour) et entraîne la mort après un court blanchiment de trois jours et une rechute le 13 juillet (dix-septième jour).

N° 80. — Rechuté le 5 juillet (neuvième jour), l'animal meurt le 9 (treizième jour).

0,00075 g. p. 100 n° 81. — Pas encore rechuté le 9 juillet, l'animal est très infecté le 11 juillet (quinzième jour) et meurt le 12 (seizième jour).

N° 82. — Rechuté le 16 juillet (vingtième jour) le Rat meurt le 18 (vingt-deuxième jour).

0,00100 g. p. 100 n° 83. — La rechute est constatée le 16 juillet (vingtième jour) et la mort le 19 (vingt-troisième jour).

N° 84. — L'animal est retrouvé mort le 13 juillet et le sang du cœur présente de très nombreux restes de trypanosomes (dix-septième jour).

0,00125 g. p. 100, n° 86. — La rechute est apparente le 13 juillet (dix-septième jour) et la mort arrive le 19 (vingt-troisième jour).

Expérience n° 49, 23 septembre 1946.

Infection : Sept Rats mâles n^{os} 250 à 256, de 90 à 100 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une suspension de 1 million de *T. equiperdum*. Le 28, l'infection est positive et le 30, la septicémie est élevée à plus de 200.000 par mm^3. Le Rat témoin n° 250 meurt ce jour-là, sept jours après l'infection.

Traitement : Ce jour, 30 septembre, nous injectons aux autres une solution à 1/200 du produit par voie sous-cutanée aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine.*

0,00125 p. 100, n° 251. — Blanchi le lendemain, le sang est infecté à nouveau le 18 octobre (dix-huitième jour) et le Rat meurt très infecté le 23 (vingt-troisième jour).

0,00150 p. 100, n° 252. — Blanchi le lendemain, le sang est à nouveau infecté le 4 novembre (trente-cinquième jour) et l'animal meurt le 7 (trente-huitième jour).

0,002 p. 100, n° 253. — Le sang, blanchi dès le lendemain, rechute le 31 octobre (trente et unième jour) et la mort survient le 7 novembre (trente-huitième jour).

0,003 p. 100, n° 254. — L'animal est retrouvé mort, grouillant de parasites le 12 novembre (quarante-troisième jour).

0,004 p. 100, n° 255. — L'animal n'est pas blanchi en vingt-quatre heures, mais l'est ensuite. La rechute survient le 31 octobre (trente et unième jour) et la mort le 4 novembre (trente-cinquième jour).

0,005 p. 100, n° 256. — L'animal meurt une heure après le traitement, vraisemblablement de son infection, l'état de résistance ayant peut-être en plus été diminué par l'injection.

Conclusions. — Pas plus que dans l'expérience précédente, nous n'avons pu obtenir de stérilisation chez des Rats richement infectés par *T. equiperdum* et traités par voie sous-cutanée, jusqu'à des doses de 0,005 g. p. 100 en Hexamidine.

La substitution méthylique abaisse l'action trypanocide de la diamidine. Les animaux rechutés font une maladie aiguë et succombent en pleine septicémie.

Tableau récapitulatif du traitement sous-cutané par la Tétraméthylhexamidine chez le Rat, en milligrammes.

	0,25	0,50	0,75	1	1,25	1,50	2	3	4	5
Résultat....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Non bl.
Incubation..	8	12,9	15,20	20	17,18	35	31	43	31	
Etat.....	4	5,4	1,2	2,3	6,5	3	7	4		

En admettant donc, ce qui n'est pas prouvé dans nos expériences, que l'on puisse obtenir une stérilisation à des doses plus fortes, (rappelons qu'à 0,0075 g. p. 100, la mort survient par toxicité), nous aurions un $\frac{C}{T}$ supérieur à $\frac{1}{1,4}$.

2°) Etude de l'action du dérivé tétraéthylé sur la trypanosomose à *T. equiperdum* du Rat.

Expérience n° 48, 23 septembre 1946.

Infection : Cinq Rats (N°s 246 à 250) reçoivent par voie sous-cutanée, une masse infectante de 1 million de *T. equiperdum*. L'infection est positive pour quatre d'entre eux le 27. Le 28, tous sont assez largement infectés.

Le Rat n° 250 (100 grammes) est conservé comme témoin, il meurt en pleine septicémie le 30 septembre (septième jour).

Traitement. — Le 28 septembre (cinquième jour) les quatre Rats sont traités par voie sous-cutanée avec une solution chlorhydrique à 1 p. 1000 de tétraéthylhexamidine, aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine :*

N° 246 : 0,00025 g. p. 100	Poids des Rats :	100 grammes
247 : 0,00050 g. p. 100		100 —
248 : 0,00075 g. p. 100		115 —
249 : 0,001 g. p. 100		100 —

Quarante-huit heures plus tard, les Rats 248 et 249 sont retrouvés morts, confirmant les limites de toxicité de nos expériences précédentes. Les deux autres sont blanchis. Mais le 2 octobre (quatrième jour) tous deux rechutent et meurent infectés les 9 et 7 octobre (onzième et neuvième jour).

Conclusion. — La tétraéthylhexamidine en solution chlorhydrique, toxique dès 0,00075 g. p. 100 peut blanchir le sang de Rats infectés par *T. equiperdum* et traités par voie sous-cutanée, mais ne met pas à l'abri des rechutes précoces, même aux doses subtoxiques.

Conclusions sur les dérivés substitués de l'hexamidine.

Les substitutions tétraméthyl et tétraéthyl sur les fonctions amine et imine de l'Hexamidine diminuent l'action trypanocide de ces nouveaux agents thérapeutiques, en même temps que la toxicité est accrue notablement. La substitution éthylique inhibe même totalement l'action curative, les rechutes suivant presque immédiatement le blanchiment.

Comme pour les dérivés de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, nous constatons que les diamidines non substituées sont moins toxiques pour l'hôte et plus actives sur les trypanosomes que celles qui comportent des restes — CH_3, C_2H_5 et C_6H_{11}.

CHAPITRE VIII.

ÉTUDE DE LA THÉRAPEUTIQUE PRÉVENTIVE DES TRYPANOSOMOSES EXPÉRIMENTALES PAR DIVERSES DIAMIDINES AROMATIQUES.

A) Introduction.

Pour fixer ce que nous entendons par prévention ou prophylaxie chimique, il nous suffit d'en rappeler la définition qu'en donnait L. Launoy, lors d'expériences sur l'action préventive du Moranyl sur la Trypanosomose expérimentale à *T. brucei* du Chat.

« Par prophylaxie chimique, il faut entendre l'emploi d'une méthode qui, introduisant dans l'organisme sain, une quantité relativement faible d'un produit chimique défini, provoque chez cet organisme un état réfractaire tel que celui-ci soit à l'abri, pendant de longs mois contre une affection déterminée ». « Autrement dit, poursuit-il, il faut exiger de la prophylaxie chimique, les caractéristiques qui sont celles de l'immunisation biologique, par l'emploi de vaccins. Ces caractéristiques sont : injection de très petites quantités de produit actif, réactions organiques négligeables ; immunisation certaine en milieu épidémique ou endémique, longue durée de l'immunisation ».

Or, malgré de très nombreux échecs essuyés dans la prévention des trypanosomoses expérimentales, les expériences se sont poursuivies et avec l'entrée en jeu des diamidines, de nouveaux espoirs pouvaient être permis.

Après la démonstration initiale de Lourie et Yorke (l. c.), confirmée ensuite par L. Launoy, de l'activité *curative* de certaines diamidines sur les trypanosomoses, ce dernier auteur prouvait l'action préventive, dès 1940 [33 et 34], du 4.4' diamidinodiphénoxypentane contre certaines infections à Trypanosomes de la Souris. Cette action préventive fut confirmée

ultérieurement par divers auteurs. Fulton, en 1944, étudia *T. rhodesiense* sur la Souris ; Van Hoff et ses collaborateurs, la même année, *T. gambiense* sur le Cobaye et en 1946, l'expérimentation préventive passe à l'Homme grâce aux travaux de Van Hoff, Lewillon, Henrard, Peel et Rodjestwensky [111] d'une part, d'autre part de Claessens [112].

B) Etude de l'action préventive du diamidinodiphénoxypentane sur la trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum.*

1° Rat.

Les expériences faites sur le Rat ont été amorcées dès 1939 par Launoy et Lagodsky, puis reprises en 1944 et publiées en leur temps. Rappelons seulement les conclusions chiffrées : les doses faibles de l'ordre de 0,002 g. à 0,0025 g. p. 100 par voie sous-cutanée permettent une protection pour des infections vingt-cinq à trente jours plus tard. Avec une dose de 0,01 g. p. 100, le temps d'épreuve peut être porté à quatre-vingt-cinq jours. Souvenons-nous que *T. brucei* souche Pasteur ne demande que 0,005 g. p. 100 pour cent jours et la souche anglaise 0,003 pour trente jours, tandis que *T. evansi* exige 0,025 pour une épreuve du trentième jour, ce qui nous amène aux doses toxiques.

2° Cobaye.

Alors que nous avons fixé la dose curative, chez le Cobaye infecté par *T. equiperdum* et traité précocement par voie sous-cutanée, à 0,0015 g. p. 100, nous avons voulu voir si la prophylaxie chimique était accessible chez cet animal.

Expérience n° 11, 25 avril 1946.

Injection préventive. — Cinq Cobayes mâles n°s 11 à 15 reçoivent par voie sous-cutanée une solution au 1 p. 1000 dans l'eau salée de 4.4' diamidinodiphénoxypentane aux doses de :

N°s 11	: 0,0010 g. p. 100	Poids des Cobayes : 270 g.
12	: 0,0015 g. p. 100	290 g.
13	: 0,0020 g. p. 100	205 g.
14	: 0,0025 g. p. 100	305 g.
15	: 0,0050 g. p. 100	210 g.

Le lendemain, le Cobaye n° 15 (0,005 g. p. 100) est retrouvé mort. Son autopsie révèle les lésions gastriques déjà observées sous forme de petits ulcères ronds et perforés.

Au bout de onze jours, le Cobaye n° 12 meurt à son tour (0,0015

g. p. 100) il présente une grosse lésion cutanée au point d'injection et le poids est tombé progressivement jusqu'à 180 grammes.

Epreuve.

15e jour. Cobaye n° 11, 0,001 g. p. 100.

L'injection préventive a provoqué une petite escarre totalement cicatrisée en quelques jours. Le poids atteint 310 grammes le 9 mai.

Le 10 mai, il reçoit ainsi qu'un témoin de 455 g. (n° 0) un million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée. La maladie du témoin a déjà été décrite. Rappelons seulement que la période d'incubation est de treize jours et que l'animal meurt le 12 juin, en pleine infection, trente-trois jours après l'infection.

Par contre, le Cobaye éprouvé ne présente pas de parasites durant toute l'observation journalière arrêtée cent jours après. (L'animal vit encore deux cent quatorze jours après). Le 23 mai (treizième jour), le 27 mai (dix-septième jour) et le 26 juillet (soixante-dix-septième jour), le passage sous-cutané de sang à des Souris est resté négatif, le sang ne présentant pas de pouvoir infectant.

La température ne varie pas sensiblement et le poids ne cesse de croître, passant de 310 grammes à l'infection d'épreuve à 690 grammes cent jours plus tard.

30e jour. Cobaye n° 13, 0,002 g. p. 100.

L'injection de la diamidine a provoqué une escarre qui est totalement cicatrisée en quelques jours.

Le 25 mai, l'animal reçoit, par voie sous-cutanée, en même temps que le témoin n° 24, un million de *T. equiperdum*. Le témoin, déjà décrit, présente des parasites en six jours et meurt en quatre-vingt-huit jours.

Le Cobaye éprouvé prend également l'infection. Dès le dixième jour, nous repérons un parasite, puis l'infection se développe légèrement (moins de 1000/mm³) jusqu'au 14 juin. Une période de blanchiment s'étend jusqu'au 26 juin et une rechute plus forte porte l'infection à 5000 le 28 juin (trente-quatrième jour). Une seconde crise lytique blanchit le sang jusqu'au 8 juillet où une troisième rechute d'abord très faible (certains jours même, on ne peut pas trouver de parasites 9, 11, 16 juillet), s'amplifie le 25 juillet (3000/mm³) jusqu'à 72.000 le 1er août. Un bref blanchiment de quarante-huit heures précède une quatrième rechute un peu plus élevée encore qu'une crise lytique supprime du 20 au 26 août. Une cinquième rechute du 27 août au 2 septembre, dont le maximum est à 12.000, est encore suivie d'une ultime période de blanchiment de six jours. Le 10 septembre, une dernière rechute se déclenche et, violente, fait passer la trypanémie successivement à 46.000 le 11, 168.000 le 12, 178.000 le 13, 288 000 le 14, 384.000 le 16 et 488.000 le 17. Le 18 septembre au matin, l'animal est mort, cent seize jours après l'infection.

Mais si l'apparition des parasites dans le sang montre qu'il n'y a pas prévention, ce résultat est connu dès avant par le pouvoir infectant du sang dès quarante-huit heures après l'infection. En effet, 0,25 cm³ de sang prélevé à la jugulaire et passé par voie sous-cutanée à une Souris l'infecte en cinq jours et la tue en pleine

infection en sept jours. Le 26 juillet, un autre passage de sang infecte une autre Souris et atteste de la virulence conservée du trypanosome.

La courbe de température est désordonnée marquant quelques points d'hyperthermie en clocher à plus de 40°, sans rapport avec le taux d'infection du sang.

Le poids ne cesse de croître jusqu'au 6 août (310 grammes) puis un léger amaigrissement se manifeste ramenant le poids à la mort à 250 grammes.

41e jour. Cobaye n° 14, 0,0025 g. p. 100.

L'injection sous-cutanée de la diamidine provoque une ulcération circulaire avec nécrose et suppuration. Mais la cicatrisation s'amorce spontanément et en une vingtaine de jours, la plaie disparaît.

Le 5 juin, l'animal reçoit par voie sous-cutanée, en même temps qu'un témoin n° 25, un million de *T. equiperdum*. Le témoin, dont la maladie a déjà été décrite, présente des parasites en six jours et meurt en pleine infection en soixante et un jours.

Le Cobaye éprouvé ne présente pas de parasites durant les cent jours que dure l'observation et vit encore deux cents jours après l'épreuve.

La recherche du pouvoir infectant du sang, effectuée le 26 juillet (cinquante et unième jour) reste négative.

Les variations de température oscillent dans les limites normales et le poids ne cesse de croître de 320 grammes le 5 juin à 635 grammes cent jours après.

Expérience n° 20, 28 mai 1946.

Injection préventive. — Huit Cobayes mâles n°s 26 à 29 et 31 à 34 reçoivent par voie sous-cutanée, une solution de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 1000 dans l'eau salée aux doses suivantes :

N°s 26-27	: 0,000.25 g. p. 100	Poids des Cobayes	: 600-500 g.
28-29	: 0,000.50 g. p. 100	» »	: 690-600 g.
31-32	: 0,000.75 g. p. 100	» »	: 500-720 g.
33-34	: 0,001 g. p. 100	» »	: 515-610 g.

Tous supportent sans choc, ni lésion consécutive, cette injection préventive. Nous les répartissons en deux lots à éprouver huit jours et quinze jours plus tard.

Epreuve :

8e jour. — Les quatre Cobayes n°s 26, 28, 31, 33 ainsi qu'un témoin n° 30 de 725 grammes sont infectés par voie sous-cutanée le 5 juin (huitième jour) avec un million de *T. equiperdum*. Le témoin est positif dès le sixième jour.

0,00025 g. p. 100, Cobaye n° 26.

Le 5 juillet (trentième jour après infection), nous trouvons quelques parasites dans le sang, qui se multiplient activement jusqu'à

92.000 le 8 juillet. Puis après une succession de crises lytiques blanchissantes (trois) et de rechutes (trois), l'animal meurt infecté le 3 septembre, quatre-vingt-dix jours après l'épreuve.

La température assez variable, marque un clocher à 40°8 le 8 juillet au moment du premier acmé trypanémique et ensuite est irrégulière. Le poids ne varie pas sensiblement durant la maladie, sauf à la fin où de 540 grammes le 20 août, il tombe à 430 à la mort. La rate à ce moment, pèse 0,60 g.

0,0005, 0,00075, 0,001 g. p. 100. Cobayes n°s 28, 31, 33.

Durant les cent jours où se poursuit l'observation, aucun parasite ne paraît dans le sang et les animaux vivent encore cent quatre-vingt-huit jours après l'épreuve. La température reste normale et le poids ne varie pas sensiblement.

15e jour. — Les Cobayes n°s 27, 29, 32 et 34 reçoivent ainsi que le témoin n° 35 de 780 grammes une suspension de 1 million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée le 12 juin (quinzième jour). Le témoin déjà décrit est positif en cinq jours et meurt en cinquante jours en pleine infection.

0,00025 g. p. 100, Cobaye n° 27.

Le 27 juin (quinzième jour après épreuve), le sang présente quelques rares parasites ainsi que le 28 et le 29. Un blanchiment se manifeste ensuite jusqu'au 6 juillet où une rechute apparaît et la mort survient le 16 juillet, trente-quatre jours après l'infection.

La température ne manifeste pas de variations sensibles, sauf une très légère poussée à 39°7 à la fin de l'incubation. Le poids se maintient sauf dans les derniers jours où il tombe de 470 g. le 9 juillet à 350 à la mort, le 16.

0, 00075 g. p. 100, Cobaye n° 32.

Pendant soixante-dix-sept jours, le sang reste stérile mais le 3 septembre (quatre-vingt-troisième jour) l'animal est parasité et après une crise aiguë, meurt le 30 septembre, cent dix jours après l'épreuve.

Le poids qui avait baissé après l'injection préventive, de 720 à 580 grammes, reprend huit jours après l'infection son niveau normal et ne varie plus sensiblement.

0,001 g. p. 100, Cobaye n° 34.

L'animal est protégé avec cette dose et ne présente pas de parasites pendant les cent jours d'observation.

Expérience n° 23, 5 juin 1946.

Injection préventive. — Dix Cobayes mâles n°s 43 à 47 et 49 à 53 reçoivent par voie sous-cutanée une solution de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 100 dans l'eau salée, aux doses suivantes :

N°s 43-49 : 0,002 g.p. 100	Poids des Cobayes :	405-420 g.
44-50 : 0,003 g. p. 100		490-400 g.
45-51 : 0,004 g. p. 100		420-540 g.
46-52 : 0,005 g. p. 100		470-390 g.
47-53 : 0,006 g. p. 100		465-400 g.

Nous avons déjà partiellement décrit cette expérience lors de l'étude de la toxicité de cette diamidine. Rappelons seulement qu'à 0,006 g., les deux Cobayes meurent en six et huit jours, qu'à 0,005 g. p. 100, en neuf et cinq jours, qu'à 0,004 g., le Cobaye n° 45 seul meurt en vingt jours et qu'à 0,002 ne survit pas le Cobaye n° 43 qui meurt en dix-neuf jours. Nous ne conservons donc pour l'expérimentation prophylactique que quatre Cobayes.

Epreuve. Trentième jour. 0,002 g. p. 100, Cobaye n° 49.

Infecté par un million de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée, le 5 juillet, ce Cobaye présente quelques parasites le 20 août, quarante-six jours après l'épreuve, alors que le témoin n° 48 est positif en trois jours. Après une succession de blanchiments et de rechutes, le Cobaye éprouvé meurt le 7 octobre, quatre-vingt-quatorze jours après l'infection, avec de profondes lésions de dépilation postérieure et de fongus des bourses. La rate pèse alors 1,28 g.

0,003 g. p. 100, Cobaye n° 44.

Infecté le même jour que le précédent, ce Cobaye est encore stérile le 10 août, mais le 20 août (quarante-sixième jour) est infecté et meurt le 1er septembre, cinquante-huit jours après l'injection d'épreuve.

59e jour. 0.003 g. p. 100, Cobaye n° 50.

Ce Cobaye est infecté par voie sous-cutanée, par un million de *T. equiperdum* le 3 août (cinquante-neuvième jour). Le sang présente des parasites dès le 20 août (dix-septième jour après épreuve). Après crises lytiques et rechutes, l'animal meurt le 7 octobre, soixante-cinq jours après l'infection.

76e jour. 0,004 g. p. 100. Cobaye n° 51.

Infecté suivant le même protocole que les précédents le 20 août (soixante-seizième jour) cet animal subit une période d'incubation de vingt et un jours, le sang étant parasité le 10 septembre. Le témoin n° 76 l'était pour sa part dès le treizième jour. La prévention n'étant pas obtenue, l'animal meurt infecté en hypothermie (moins de 28° quelques instants avant la mort) le 29 octobre, soixante jours après l'épreuve.

Expérience n° 46, 3 septembre 1946.

Injection préventive. — Cinq Cobayes mâles n°s 77 à 81 reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à 1 p. 100 dans l'eau distillée, à la dose de 0,003 g. p. 100 fractionnées en deux prises égales de 0,0015 g. p. 100 à quarante-huit heures d'intervalle le 3 et 5 septembre 1946.

Nous avons déjà décrit partiellement cette observation au cours de nos expériences de toxicité. Rappelons simplement que trois d'entre eux meurent en six et sept jours après la seconde injection.

Epreuve. 28e jour après deuxième injection.

Les deux Cobayes survivants nos 79 et 80, ainsi qu'un témoin n° 87 reçoivent, par voie sous-cutanée, un million de *T. equiperdum* le 3 octobre, vingt-huit jours après la deuxième injection préventive. Le témoin est positif en cinq jours et meurt le 17 décembre, soixante-quinze jours après l'infection.

Cobaye n° 80.

Dès le 21 octobre (dix-huitième jour après l'épreuve), le sang présente quelques rares parasites. Un blanchiment de quinze jours fait suite et une rechute survient. Après le développement habituel de la maladie (crises lytiques et rechutes, dépilation postéroventrale, œdème des bourses), l'animal meurt le 25 janvier 1947, cent quatorze jours après l'injection d'épreuve.

Cobaye n° 79.

Le sang reste stérile jusqu'au 27 novembre (cinquante-cinquième jour) mais ce jour, l'animal meurt d'occlusion intestinale. Un frottis de sang cardiaque ne révèle pas de parasites.

Expérience n° 58, 14 novembre 1946.

Injection préventive. — Deux Cobayes mâles nos 108 et 109, de 270 et 320 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1/200 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane à la dose de 0,0015 g. p. 100 le 14 novembre 1946.

Epreuve. 30e jour. Cobaye n° 108.

En même temps qu'un témoin n° 110, ce Cobaye est infecté par voie sous-cutanée avec 1 million de *T. equiperdum* le 14 décembre 1946 (trentième jour). Le témoin est positif en douze jours et meurt en cent quinze jours.

Le Cobaye éprouvé présente des parasites le 26 février (soixante-quatorzième jour) et après crises lytiques et rechutes, meurt le 11 avril (cent dix-huitième jour après épreuve).

61e jour. Cobaye n° 109.

Infecté par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum* le 14 janvier 1947 (soixante et unième jour) ce Cobaye est positif en quatre jours et meurt le 24 mars 1947 (soixante-neuvième jour).

Conclusions générales sur l'action prophylactique du 4.4' diamidinodiphénoxypentane chez le Cobaye.

La prophylaxie chimique par voie sous-cutanée par le 4.4' diamidinodiphénoxypentane est possible contre *T. equiperdum* chez le Cobaye.

A partir de 0,0005 g. jusqu'à 0,001 g. p. 100, ces doses négativent l'infection d'épreuve des huitième et quinzième jours.

Par contre, les Cobayes prennent l'infection pour des épreu-

ves supérieures ou égales à trente jours même pour des doses subtoxiques comme 0,002 g. p. 100 et 0,003 g. p. 100 pour trente jours, 0,003 g. p. 100 pour cinquante-neuf jours et 0,004 g. p. 100 pour soixante-seize. Nous n'avons qu'un cas de protection à 0,0025 g. p. 100 pour une épreuve du quarante et unième jour.

En deux doses de 0,0015 g. p. 100 à quarante-huit heures d'intervalle, pour une épreuve du vingt-huitième jour après médication, un Cobaye succombe infecté et un autre reste stérile pour cinquante-cinq jours d'observation (il meurt de maladie secondaire).

Les résultats sont groupés dans le tableau ci-joint :

TABLEAU RECAPITULATIF.

Temps d'épreuve en jours	Doses injectées en mg. p. 100 g. chez le cobaye									
	0,25	0,50	0,75	1	1,50	2	2,50	3 en 1 fois	3 en 2 doses	4
8	+30,60	0	0	0						
15	+15,19	0	+83,27	0,0						
28									+18,96	
30					+74,44	+10,106		+46,12		
						+46,48				
41							0			
59								+17,48		
61					+ 4,65					
76										+21,39

+ = Rechute — O = Etat réfractaire.
Le 1er chiffre..... = Durée d'incubation.
Le 2e chiffre..... Période d'état.

De ce tableau, nous constatons que le 4.4' diamidinodiphénoxypentane, injecté au Cobaye, par voie sous-cutanée, ne permet une prophylaxie chimique qu'à la condition de l'injecter de huit à quinze jours avant l'infection trypanosomique. Toutefois, nous avons eu un résultat exceptionnel à quarante et un jours.

Pour les épreuves positives d'infection précoce et semi-tardive (quinze et trente jours), on peut noter quelquefois un allongement sensible de la maladie.

La marche de celle-ci et les lésions organiques se superposent à celles de la maladie normale.

3° Lapin.

Nous avons pu guérir la trypanosomose du Lapin par l'injection sous-cutanée de 0,01 g./kilog de 4.4' diamidinodiphénoxypentane ; nous en avons recherché également l'action préventive.

Expérience n° 13, 29 avril 1946.

Injection préventive. — Six Lapins mâles, de 2.100 à 2.500 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, aux doses suivantes :

N^{os} 9	: 0,005 g./kilog.	Poids des Lapins :	2300 g.
10-11	: 0,010 g./kilog.	» »	: 2500-2120 g.
12-13	: 0,015 g./kilog.	» »	: 2100-2350 g.
14	: 0,020 g./kilog.	» »	: 2400 g.

Les injections sont suivies des réactions déjà décrites plus haut, réflexes de grattage, battements des oreilles, défécation diarrhéiforme, soif, diurèse, dépression. En une heure environ tout redevient normal.

Epreuve : dixième jour. — Le 9 mai, les deux Lapins 9 et 10 reçoivent en même temps qu'un témoin n° 15, deux millions de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée. Le sang de ce dernier est infectant dès le septième jour.

0,005 g./kg. n° 9. — Le 28 mai (dix-neuvième jour après infection) apparaît un léger œdème du fourreau qui augmente et atteint l'anus le 31. Le 4 juin, un œdème atteint la paupière supérieure gauche. Ce jour là, l'animal présente de la faiblesse du train postérieur, le Lapin est couché, raide, secoué de temps à autre de soubresauts comme lors d'une crise d'hypoglycémie ; mais il y a amélioration dans la soirée. Le 7 apparaît un œdème du museau et de la bourse gauche. Le 10 juin (trente-deuxième jour) l'enveloppe testiculaire se déchire et il y a de fortes hémorragies. L'animal est abattu, les oreilles sont lourdes et tombantes. Le lendemain, 11 juin, le Lapin est retrouvé mort.

A l'autopsie, l'urine vésicale est albumineuse (2 g. p. 1000), le testicule gauche manque ; la rate pèse 1,40 g.

L'examen sanguin confirme les signes cliniques de la maladie ; en effet, le 21 mai (douzième jour après l'épreuve) nous trouvions quelques rares parasites que nous ne retrouvons plus à partir du 23. Toutefois, le sang ventriculaire droit, à l'autopsie, présente quelques très rares parasites.

D'autre part, 0,75 cm^3 de sang veineux passé par voie sous-cutanée à deux Souris le 16 mai (septième jour) les infecte toutes deux.

La courbe de température est typique et superposable à celles déjà observées lors de la maladie ou du traitement. Quarante-huit heures après l'épreuve, se manifeste une première poussée sans lendemain à 40° ; après un répit de dix jours, le 21, alors que la

trypanémie est apparente, la température saute à 40°8 et reste à plus de 40° jusqu'à la mort, à l'exclusion d'un 39°1 le 5 juin et de deux 39°6 le 22 mai et le 4 juin.

Le poids s'est maintenu durant la presque totalité de la maladie, mais de 2.220 grammes le 1er juin, il baisse progressivement et n'est plus que de 1.570 grammes le 11 à la mort.

La glycémie dosée au moment de la crise du 4 juin est de 0,72 g. p. 1000.

0,010 g./kg., n° 10.

Pendant les cent vingt-quatre jours qu'a duré l'observation, aucune lésion clinique n'est apparue chez ce Lapin. La température n'a jamais manifesté de clocher et est restée normale. Le poids n'a pas varié sensiblement.

L'examen du sang reste négatif. De même, le pouvoir infectant du sang pour la Souris est négatif aux essais du 16 mai (septième jour après épreuve), 27 mai (dix-huitième jour).

L'observation est arrêtée le 10 septembre (cent vingt-quatrième jour) car le Lapin meurt de pleurésie purulente ; aucune lésion de trypanosomose ne se révèle à l'autopsie.

Epreuve. Vingt-sixième jour.

Le 25 mai 1946, les Lapins nos 11 (0,010 g./kg.) et 13 (0,015 g./kg.) reçoivent par voie sous-cutanée, en même temps qu'un témoin n° 20 deux millions de *T. equiperdum*. Le sang de ce dernier est infectant dès le surlendemain et les lésions d'œdème et de dépilation apparaissent dès le treizième jour.

0,010 g./kg., Lapin n° 11.

Sans lésion apparente pendant vingt jours, ce Lapin présente le 14 juin (vingtième jour) une escarre dorsale qui se développe les jours suivants. Le 21 juin (vingt-septième jour) apparaît une légère dépilation avec squames à la base de l'oreille gauche. Tandis que ces premières lésions s'aggravent, une autre escarre se forme à la patte postérieure droite avec un léger œdème le 11 juillet. Vers le 19 juillet (cinquante-cinquième jour) une petite excoriation atteint l'angle antérieur de l'œil gauche, tandis que la paupière supérieure de l'œil droit est œdématiée et subit un commencement de dépilation. La patte gauche porte une petite escarre à son tour le 23 juillet. Le museau est œdématié également le 26, ainsi que les bords de l'anus. Le 29, les organes génitaux sont atteints et le fourreau est très dilaté par l'œdème. Le 31, les bords de l'anus suintent de sang alors que l'œdème du fourreau se maintient. Les altérations oculaires s'accentuent et l'œil gauche suppure le 6 août (soixante-treizième jour) alors que les dépilations périoculaire et nasale s'accentuent. L'état général évolue lentement et les signes cliniques persistent et s'aggravent durant août et septembre. Puis vers le 20 octobre, les altérations génitales s'accentuent et le 21 octobre, alors que le fourreau et la bourse droite sont œdématiés, la bourse gauche se déchire avec d'abondantes hémorragies. Le 29, les deux testicules sont tombés et l'animal succombe cent cinquante-sept jours après l'inoculation d'épreuve.

La température reste normale jusqu'au 11 juin. Le 14 juin, une poussée à 40° et à 40°2 le 17 coïncide avec l'apparition de l'escarre dorsale ; un répit au niveau habituel s'étend jusqu'au 27 juin à l'exclusion d'un jour à 40°1 le 21. Puis à partir du 28, la courbe thermique atteint à nouveau 40° et reste en plateau jusqu'à la période agonique à plus de 40°, à l'exception de chutes d'un jour au niveau normal dix fois en quatre-vingt-quatorze jours.

Le poids s'est accru pendant les vingt-six jours précédant l'infection de 2120 à 2390 g. et continue à augmenter durant la presque totalité de la maladie jusqu'à 2.750 grammes le 24 septembre. Le dernier mois montre un fort amaigrissement et l'animal meurt à 1950 grammes.

Le pouvoir infectant du sang est négatif quarante-huit heures après l'infection, à la différence du témoin, mais est positif le 25 juin (trente et unième jour après épreuve) : 1,25 cm^3 de sang veineux inoculé par voie sous-cutanée à deux Souris les infecte en six jours.

0,015 g./kg., Lapin n° 13.

Sans lésion apparente pendant vingt jours, ce Lapin présente le 17 juin (vingt-troisième jour après infection) un œdème à la base de l'oreille gauche. Cet œdème ponctionné révèle la présence de nombreux parasites très mobiles avec quelques leucocytes. Le 24 juin, une escarre apparaît sur la patte arrière droite avec dépilation. Le 28 juin (trente-quatrième jour), les lésions atteignent les organes génitaux ; l'enveloppe testiculaire droite est très œdématiée alors que du pus se forme sur la verge. Le 2 juillet, les yeux subissent à leur tour l'atteinte de la maladie ; l'œil droit laisse suinter un écoulement mucopurulent. De la dépilation apparaît sur le museau et à la base des oreilles. L'enveloppe testiculaire gauche se sclérose tandis que le 5 juillet un très gros œdème dilate le fourreau qui atteint la taille d'une noix. Les jours suivants tous ces symptômes s'accentuent ; les deux yeux sont obturés par le suintement purulent. L'anus est œdématié et le 17 juillet (cinquante-troisième jour) un début d'éventration de la bourse gauche provoque une légère hémorragie, l'enveloppe testiculaire droite est aussi œdématiée et une ponction dans celle-ci révèle quelques parasites. Le museau est de plus en plus dépilé ainsi que les pattes postérieures dont la racine des ongles est dénudée. Le 23 juillet, du pus suinte sur le testicule gauche ; le 29 se développe une large escarre sur la face dorso coccigienne. Les deux yeux sont totalement clos par le pus tandis que le pavillon de l'oreille gauche saigne. Le 30 juillet, l'animal meurt soixante-six jours après l'épreuve.

Le sang, prélevé à l'autopsie dans une veine abdominale révèle quelques rares parasites très mobiles de même que dans le sang ventriculaire droit. La rate pèse 1,60 g.

La courbe de température reste normale jusqu'au 11 juin, mais le 14 monte à 40° et à 40°2 le 17, alors que l'œdème de l'oreille apparaît et révèle de nombreux trypanosomes. Après un bref répit à 39°4, le 21, la température remonte à 40° le 22 et reste en plateau hyperthermique à plus de 40° jusqu'à la période agonique. Encore à 40°2 le 26 juillet, elle tombe à 37°4 le 29, la veille de la mort.

Le poids de 2.350 grammes passe à l'infection, à 2.470 et continue à augmenter jusqu'à 2.800 grammes le 11 juillet. Puis un fort amaigrissement marque la fin de la maladie et à la mort, le poids n'est plus que de 1.920 grammes. Le pouvoir infectant du sang est négatif quarante-huit heures après l'infection contrairement au témoin et s'il n'est pas recherché à nouveau, la présence de trypanosomes à plusieurs reprises dans les œdèmes confirme l'échec de la thérapeutique prophylactique.

Remarque. — Le Lapin n° 12 qui a reçu également 0,015 g./kg. de diamidine n'a pu être éprouvé car il est mort le onzième jour après son injection préventive avec de fortes diarrhées.

Epreuve, cinquante-deuxième jour.

Le 20 juin, le Lapin n° 14 reçoit par voie sous-cutanée, deux millions de *T. equiperdum*. La virulence des parasites est vérifiée par inoculation à deux Rats blancs qui sont positifs en cinq jours et meurent en dix et onze jours.

Après trente-deux jours de vie apparemment normale, le Lapin montre le 22 juillet (trente-deuxième jour) une escarre dorsale et un léger œdème du fourreau qui atteint l'enveloppe testiculaire droite le 26. Le liquide de cet œdème ne montre pas de parasites et le lendemain, passé à une Souris (0,10 cm³) ne l'infecte pas.

Le 31 juillet apparaît à son tour un léger œdème susorbitaire gauche qui devient bilatéral le 3 août. Ces altérations s'accentuent les jours suivants ; les zones périoculaires perdent leurs poils ainsi que le museau ; l'escarre dorsale s'aggrave, se creuse dans les tissus sous-jacents et saigne le 19 août. Le 22, sur la patte postérieure droite, au niveau du troisième ongle et sur le côté, des saignements apparaissent. Le 23, l'animal meurt soixante-quatre jours après l'infection.

La température monte en brusque clocher de 39°1 le 26 juin à 41° le 27 et 39°9 le 28 et après un répit de quarante-huit heures, atteint à nouveau 40°5 le 2 juillet. Un nouveau retour à la normale s'étend jusqu'au 13 juillet à l'exception d'une fois à 40°3 le 9 et 40°2 le 11. Puis le 17 juillet, l'hyperthermie atteint 40°4 et se maintient en plateau jusqu'à la période prémortelle. Encore à 40°6 le 19 août, elle passe à 39°8 le 20 et tombe à 36°1 le 22, veille de la mort.

Le poids qui est monté à 2.550 grammes le jour de l'épreuve atteint 2.750 grammes le 11 juillet. Un amaigrissement terminal conduit à une grosse perte de poids et l'animal ne pèse plus que 1.850 grammes à la mort.

L'examen du sang a révélé un parasite dès le 27 juin, sept jours après l'épreuve. D'autre part, un passage de 0,50 cm³ de sang veineux à une Souris l'infecte en six jours. A l'autopsie, le sang présente quelques parasites encore très mobiles environ un par vingt champs.

Expérience n° 30, 2 juillet 1946.

Injection préventive. — L'injection préventive d'une dose unique de 4.4' diamidinodiphénoxypentane n'ayant donné que des ré-

sultats partiellement satisfaisants, nous avons essayé d'accroître la dose thérapeutique par doses fractionnées.

Nous avons donné 0,04 g./kg. en deux doses à quarante-huit heures d'intervalle et 0,06 g./kg. en trois doses. Lors de l'étude de la toxicité de cette diamidine, nous avons dit que la dose de 0,06 g./kg. avait été mortelle pour les trois animaux en expérimentation. Par contre, la dose de 0,04 g. est supportée. Elle est administrée les 2 et 4 juillet par fractions de 0,02 g./kg. en solution à 1 p. 100 par voie sous-cutanée aux trois Lapins mâles n°s 21, 22 et 23.

Epreuve.

Seizième jour. — Lapin n° 21.

Cet animal reçoit par voie sous-cutanée, deux millions de *T. equiperdum*, en même temps qu'un témoin n° 24 le 20 juillet (seizième jour après la seconde injection). Ce dernier présente la suite habituelle des lésions de la trypanosomose.

L'animal éprouvé ne manifeste aucun trouble à la suite de l'infection durant les deux cents jours qui suivent.

La température marque seulement un clocher sans lendemain à 40° le 27 juillet (septième jour) et depuis reste normale.

Le poids passe successivement de 1.910 grammes au début de l'expérimentation à 2.150 au moment de l'épreuve, puis à 2.850 un mois plus tard et 3.750 grammes le 8 janvier 1947, cent soixante douze jours après l'épreuve. Quatre cent quarante jours après épreuve, il n'y a toujours aucune manifestation de trypanosomose.

Trentième jour. — Lapin n° 22. — Le 3 août 1946 (trentième jour après la seconde injection préventive) ce Lapin est infecté par voie sous-cutanée avec deux millions de *T. equiperdum*. La virulence de la suspension parasitaire est vérifiée sur un Rat qui meurt infecté en douze jours. Sans altérations apparentes jusque là, ce Lapin, le 11 septembre (trente-neuvième jour), présente un très léger œdème susorbitaire gauche avec tendance à la dépilation. Le 17, une légère inflammation se localise sur la conjonctive droite et le 24, les deux paupières droites sont congestionnées tandis que se forme une légère croûte sur une zone épilée de la paupière supérieure gauche. Ces lésions s'accentuent doucement et une escarre de l'angle externe de l'œil gauche se forme et s'étend à partir du 30 septembre. Au courant d'octobre (troisième mois), la maladie ne s'étend pas sensiblement dans ses manifestations externes. Toutefois, le 4 novembre, on observe une grosse plaque d'œdème dans la région lombaire et le 8, sans autre manifestation, l'animal est retrouvé mort quatre-vingt-dix-sept jours après l'infection d'épreuve.

La courbe de température est très irrégulière, un premier clocher à 39°9 précède de cinq jours, le 6 septembre, la première altération cutanée. Puis, à la fin du mois de septembre, la température atteint 40° (24 : 40°1 ; 25 : 39°9 ; 27 : 40°). Puis la courbe apparaît en dents de scie dont les sommets sont d'ailleurs inférieurs à 40°.

Le poids qui s'était accru de 2.200 à la fin des injections préventives à 3.000 grammes le 24 septembre diminue avant la mort où il n'est plus que de 2.710 grammes. A l'autopsie, les intestins, testicu-

les, reins, foie et estomac semblent morphologiquement normaux. La rate pèse 1,05 g. On trouve un gros caillot sanguin sous-dermique dans la région lombaire. Le sang cardiaque ne présente pas de parasites à l'examen direct, ni sur frottis.

Soixante-deuxième jour. — Lapin n° 23.

Cet animal reçoit, par voie sous-cutanée, soixante-deux jours après la deuxième injection préventive le 4 septembre, deux millions de *T. equiperdum*. La virulence des parasites est vérifiée chez un Rat blanc qui succombe, infecté en huit jours.

Pendant les quatre cents jours qui suivent l'épreuve, aucune manifestation de trypanosomose n'apparaît. La température reste dans les limites normales. Le poids augmente et de 2.420 grammes à la fin des injections préventives, passe à 4.000 grammes le 8 janvier 1947 (cent vingt-sixième jour).

L'essai de pouvoir infectant du sang effectué le 18 novembre 1946, soixante-quinze jours après l'infection est négatif pour deux Rats ayant reçu chacun 8 cm³ de sang veineux par voie sous-cutanée et une Souris ayant reçu 1 cm³.

Conclusions générales de l'action prophylactique chimique chez le Lapin.

Le 4.4' diamidinodiphénoxypentane, injecté par voie sous-cutanée, permet de provoquer un état réfractaire chez le Lapin infecté ensuite par *T. equiperdum*, à condition de faire l'inoculation d'épreuve précocement (dix jours pour 0,01 g./kg.) 0,005 g./kg. dans les mêmes conditions, ne permet pas d'éviter l'infection. Pour une épreuve de vingt-six jours, les doses de 0,010 g. et 0,015 g. sont insuffisantes de même que 0,020 pour cinquante-deux jours.

Par contre, l'inoculation préventive de 0,040 g./kg. en deux doses égales à quarante-huit heures d'intervalle protège pour des épreuves du seizième et du soixante-deuxième jour. Toutefois, la même dose n'a pas créé d'état réfractaire chez un Lapin éprouvé trente jours plus tard. Le tableau ci-joint résume les résultats obtenus. Il est à noter que les animaux qui n'ont pas montré d'état réfractaire ont fait une maladie à peu près superposable au tableau clinique des animaux sur lesquels nous avons étudié la trypanosomose expérimentale du Lapin.

Tableau récapitulatif de l'action préventive chez le Lapin.

Epreuve en jours	Dose de diamidinodiphénoxypentane en mg. p. kg.				
	5	10	15	20	40 en 2 fractions
10	+19-33	0			
16					0
26		+ 20-157	+23-66		
30					+39-97
52				+32-64	
62					0

0 = Etat réfractaire.
\+ = Infection positive.
1° chiffre. — Apparition de la première altération.
2° chiffre. — Durée de la maladie (inoculation à mort).

4° *Tableau récapitulatif des résultats obtenus en prévention par voie sous-cutanée, contre* T. equiperdum *par le 4.4' diamidinodiphénoxypentane.*

Cobaye g. p. 100			Rat g. p. 100			Lapin g./kg.		
Intervalle entre la prévention et l'épreuve	Dose	DP / DT	Intervalle entre la prévention et l'épreuve	Dose	DP / DT	Intervalle entre la prévention et l'épreuve	Dose	DP / DT
8	0,0005	1/6	30	0,0025	1/12	10	0,01	1/6,4
15	0,0005	1/6	85	0,01	1/3	16	0,04(2)	1/1,6
41	0,0025	1/1,2				62 (1)	0,04(2)	1/1,6

(1) L'épreuve du 30e jour à la même dose a été positive.
(2) Dose fractionnée en 2 injections de 0,02 g./kg. à 48 heures d'intervalle.
N. B. — Pour les épreuves qui furent positives, nous renvoyons aux tableaux partiels.

C) **Dérivés substitués du 1.4' diamidinodiphénoxypentane.**

1°) *Dérivé diméthylé.*

L'étude de l'action préventive de cette diamidine est limitée à *T. equiperdum* chez le Rat blanc.

Expérience n° 33, 11 juillet 1946.

Injection préventive. — Trois Rats n°s 152 à 154 reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 de 4.4' diméthyldiamidinodiphénoxypentane aux doses suivantes, *exprimées en diamidine non substituée.*

N°s 152..	0,0025 g. p. 100	Poids des Rats :	85 g.
153..	0 0050 g. p. 100		80 g.
154..	0,0075 g. p. 100		80 g.

Les deux doses fortes provoquent une escarre au point d'injection qui se cicatrise spontanément.

Inoculation d'épreuve :

15e jour. — 0,0025 g. p. 100, Rat n° 152.

Le 26 juillet ce Rat reçoit en même temps qu'un témoin n° 160 de 85 grammes, 1 million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée. Le témoin est positif en quatre jours et meurt en cinq.

Le Rat éprouvé présente un parasite à l'examen du 6 septembre (quarante-deuxième jour) et nous n'en trouvons plus jusqu'au 28 septembre où une rechute violente se manifeste, conduisant à la mort en pleine infection le 4 octobre (soixante et onzième jour).

23e jour. — 0,005 g. p. 100, Rat n° 153. — Le 3 août, ce Rat est infecté par voie sous-cutanée, par 1 million de *T. equiperdum* en même temps qu'un témoin n° 161 de 90 grammes. Le témoin est positif en neuf jours et meurt en douze.

L'animal éprouvé est trouvé infecté par un parasite le 3 septemtre (trente et unième jour) et jusqu'au 10 octobre, le sang paraît blanchi. Puis les examens sont positifs aux examens du 11 et du 18 octobre alors qu'ils sont négatifs le 14 et le 24. Le Rat meurt infecté le 30 octobre, quatre-vingt-huit jours après l'infection.

30e jour. — 0,0075 g. p. 100, Rat n° 154. — Le 10 août, ce Rat est infecté par 1 million de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée. Le 21 août (onzième jour) le sang est parasité jusqu'au 24 puis est blanchi jusqu'au 12 septembre. Une ultime rechute, à partir du 13, entraîne la mort le 17 trente-huit jours après l'épreuve.

Conclusions : L'état réfractaire 100 p. 100 ne peut être obtenu par le 4.4' diméthyl-diamidinodiphénoxypentane, pour des épreuves de seize, vingt-trois et trente-jours aux doses respectives de 0,0025, 0,005 et 0,0075 g. p. 100, injectés préventivement à des Rats contre *T. equiperdum* ; par contre, les infec-

tions sont nettement retardées, un blanchiment plus ou moins long précède les rechutes qui tuent en pleine infection.

Tableau récapitulatif.

Epreuve en jours	Dose en mg. pour 100 g. de Rat		
	2,5	5	7,5
15 Témoin 23 Temoin 30	+ 42,71 4,5	+ 31,88 9,12	+ 11,38

+ = Pas d'état réfractaire.
1er chiffre = Incubation.
2e chiffre = Durée de la maladie (épreuve à mort).

2°) *Dérivé diéthylé.*

Comme pour le précédent, l'expérimentation est limitée à *T. equiperdum* du Rat blanc.

Expérience n° 35, 24 juillet 1946.

Injection préventive. — Trois Rats de 80 à 100 grammes, n°s 163 à 165 reçoivent par voie sous-cutanée une solution à 1/200 dans l'eau distillée de 4.4' diéthyldiamidinodiphénoxypentane aux doses suivantes, *exprimées en diamidine non substituée :*

N°s 163..	0,0025 g. p. 100	Poids des Rats : 100 g.
164..	0,0050 g. p. 100	85 g.
165..	0,0075 g. p. 100	80 g.

Epreuve. — Afin de superposer les résultats aux précédents, nous injectons les parasites après les mêmes délais.

15e jour, 0,0025 p. 100, Rat n° 163. — Le 8 août, nous injectons par voie sous-cutanée, un million de *T. equiperdum,* ainsi qu'à un témoin n° 170 de 100 grammes.

Le témoin est positif en cinq jours et meurt infecté en onze jours.

L'animal éprouvé ne présente pas de parasites durant les cent jours qui suivent.

23e jour, 0,005 g. p. 100, Rat n° 164.

Le 16 août, cet animal est éprouvé par voie sous-cutanée, avec 1 million de *T. equiperdum* ainsi qu'un témoin n° 171 de 95 grammes. Le témoin est positif en trois jours et meurt en cinq jours.

Le Rat éprouvé est également faiblement positif le troisième jour, mais à partir du cinquième, le sang reste blanchi jusqu'au centième jour de l'observation.

30e jour, 0,0075 g. p. 100, Rat n° 165.

Il est éprouvé avec 1 million de *T. equiperdum* le 23 août, en même temps qu'un témoin n° 172 de 100 grammes. Ce dernier est positif en quatre jours et meurt en sept.

Le Rat éprouvé reste stérile pendant les cent jours suivants.

Expérience n° 51, 9 octobre 1946.

Injection préventive. — Neuf Rats de 100 à 110 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1/200 dans l'eau distillée de 4.4' diéthyldiamidinodiphénoxypentane, aux doses suivantes, exprimées en diamidinodiphénoxypentane :

N°s 270, 273 } 0,0025 g. p. 100

271, 274, 277, 280 } 0,0050 g. p. 100

275, 278, 281 } 0,0075 g. p. 100

A la suite de ces injections, les deux Rats n°s 275 et 281 (0,0075 g. p. 100) meurent en moins de vingt-quatre heures. Les autres supportent bien ce traitement préventif.

Epreuve. 35e jour. — Le 13 novembre 1946, les Rats 270 et 271 reçoivent ainsi qu'un témoin n° 272 une suspension de 1 million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée. Le témoin est positif en cinq jours et meurt infecté en six jours.

0,0025 g. p. 100, Rat n° 270.

Il est positif dès le cinquième jour mais blanchi le 26 novembre (treizième jour) puis rechute le 28 et est à nouveau blanchi jusqu'au 30 décembre. Le 2 janvier (cinquantième jour), une nouvelle rechute survient ; le 25 janvier à nouveau, le sang est blanchi mais après de nouvelles rechutes, l'animal meurt le 21 février, soit 100 jours après l'épreuve.

0,0050 g. p. 100, Rat n° 271. — Le sang présente quelques parasites dès le cinquième jour, mais une succession de blanchiments et de rechutes précède la mort en infection le 10 décembre, vingt-sept jours après l'épreuve.

Quarantième jour. — Le 18 novembre, nous infectons en même temps qu'un témoin n° 279 avec un million de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée les autres Rats en prévention. Le témoin est positif en cinq jours et meurt infecté en douze jours.

0,0025 g. p. 100, Rat n° 273. — Positif le 26 novembre (huitième jour), ce Rat meurt infecté le 3 décembre quinze jours après l'épreuve.

0,0050 g. p. 100, Rat n° 274. — Ce Rat présente quelques rares parasites le 28 décembre (quarantième jour) mais dès le surlendemain est blanchi et nous ne retrouvons plus de parasites malgré une observation exceptionnellement prolongée de cent soixante jours.

Rat n° 277. — Sans parasites jusqu'au 28 décembre, le sang est infecté le 30 (quarante-deuxième jour). Puis il est blanchi et rechute le 18 janvier. Après crises lytiques et rechutes, le Rat meurt en septicémie le 7 mars 1947 cent neuf jours après épreuve.

Rat n° 280. — Positif le 30 novembre (douzième jour), le Rat meurt infecté le 5 décembre (dix-septième jour).

0,0075 g. p. 100, Rat n° 278. — Positif le 7 décembre (dix-neuvième jour) ce Rat meurt après deux blanchiments, en pleine infection le 20 décembre (trente-deuxième jour).

Conclusions sur l'action préventive du 4.4'diéthyldiamidinodiphénoxypentane.

L'état réfractaire du Rat blanc contre *T. equiperdum* peut être obtenu par l'injection sous-cutanée de ce dérivé jusqu'à trente jours pour une dose de 0,0075 g. p. 100 exprimée en diamidine non substituée. Pour des épreuves du trente-cinquième et du quarantième jour, les essais sont négatifs mais l'évolution de la maladie est très retardée. Le sang des animaux présente des successions de crises lytiques et de rechutes et la maladie des Rats non réfractaires ne présente aucun rapport avec la maladie normale, ni même avec la maladie de rechute d'animaux traités et rechutés.

D'autre part, il est intéressant de noter que pour la première fois nous voyons deux rats éprouvés être légèrement infectés (n °164, 0,005/23e jour et 274, 0,005/40e jour) et blanchis spontanément sans rechute ultérieure pour des observations prolongées à cent et cent soixante jours. Il est à se demander si toutes les fois où l'état réfractaire est acquis, l'animal ne fait pas une courte maladie inapparente habituellement et que cette fois nous avons pu mettre en évidence par examen direct du sang.

Tableau récapitulatif de la prévention par le 4.4' diéthyldiamidinodiphénoxypentane.

Epreuve en jours	Doses sous-cutanées en mg. pour 100 g. de Rat		
	2,50	5	7,50
15	0		
Témoin	+ 5 - 11		
23		0	
Témoin		+ 3 - 5	
30			0
Témoin			+ 4 - 7
35	+ 5 - 100	+ 5 - 27	
Témoin	+ 5 - 6	+ 5 - 6	
40	+ 8 - 15	+ 40 - 0	+ 19 - 32
Témoin	+ 5 - 12	+ 42 - 109	+ 5 - 12
		+ 12 - 17	
		Témoin + 5 - 12	

Dans ce tableau, nous pouvons constater l'action prophylactique chimique de ce dérivé. Alors que nous avons un $\frac{C}{T} = \frac{1}{2,5}$, nous pouvons établir un rapport favorable entre la dose préventive et la dose toxique : $\frac{DP}{DT} = \frac{1}{4}$ pour quinze jours, $\frac{1}{2}$ pour vingt-trois jours et $\frac{1}{1,3}$ pour trente jours.

3° *Dérivé dicyclohexylé.*

Nous superposerons nos résultats aux précédents en nous limitant à *T. equiperdum* chez le Rat blanc et en injectant des doses rapportées à la diamidine non substituée, soit le 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Expérience n° 28, 28 juin 1946.

Injection préventive. — Nous inoculons à dix Rats de 90 à 115 grammes, une solution à 1/200 dans l'eau distillée, par voie sous-cutanée aux doses suivantes exprimées en *diamidine non substituée :*

N°s 106 et 112 : 0,0025 g. p. 100
107 et 113 : 0,0050 g. p. 100
108 et 114 : 0,0075 g. p. 100
109 et 115 : 0,0100 g. p. 100
110 et 116 : 0,015 g. p. 100

Le Rat n° 108 meurt en moins de vingt-quatre heures, les autres supportent les injections.

Epreuve.

15e jour, 0,0025 g. p. 100, Rat n° 106. — En même temps que le témoin n° 111, ce Rat est infecté avec 1 million de *T. equiperdum*, par voie sous-cutanée le 13 juillet. Le témoin est positif en trois jours et meurt en quatre.

Le Rat éprouvé est positif en trois jours et meurt en pleine septicémie en neuf jours.

22e jour, 0,0025 g. p. 100, Rat n° 112. — Ce Rat est infecté sous la peau, en même temps que le Rat n° 107 et un témoin n° 117 avec 1 million de *T. equiperdum*, le 20 juillet 1946. Le témoin est positif en trois jours et meurt en cinq.

Le Rat éprouvé est également positif en trois jours et meurt en cinq.

0,005 g. p. 100, Rat n° 107. — Celui-ci est positif également en trois jours et meurt en six jours.

25e jour. — L'injection sous-cutanée d'un million de *T. equiperdum* est faite simultanément le 23 juillet 1946 sur les Rats numéros 113, 114 et 109, ainsi qu'un témoin n° 162. Ce dernier est positif en six jours et meurt en treize jours.

0,0050 g. p. 100 Rat n° 113. — Encore blanc le 9 août, le sang grouille de parasites le 12 août (vingtième jour après épreuve) et le Rat meurt le lendemain.

0,0075 g. p. 100, Rat n° 114. — Positif le 30 juillet (septième jour), ce Rat meurt infecté le 5 août (treizième jour).

0,0100 g. p. 100, Rat n° 109. — Positif dès le 29 juillet (sixième jour), le sang est blanchi les 1er et 2 août, puis rechute le 5. A nouveau blanchi, puis rechuté, l'animal meurt le 19 août, vingt-sept jours après l'épreuve.

31e jour. — L'injection sous-cutanée d'un million de *T. equiperdum* est faite simultanément le 29 juillet sur les Rats n°s 115, 116 et 110, ainsi que sur le témoin n° 129. Ce dernier est positif en trois jours et meurt en cinq.

0,010 g. p. 100, Rat n° 115. — Positif en trois jours, il meurt le 5 août en sept jours.

0,015 g. p. 100, Rat n° 116. — Positif en trois jours, il meurt le 12 août en quatorze jours.

Rat n° 110. — L'injection préventive avait provoqué une grosse escarre purulente avec atrophie et paralysie de la patte postérieure droite. L'escarre augmente et l'animal en meurt le lendemain de l'épreuve.

Expérience n° 29, 3 juillet 1946.

Injection préventive. — Dix Rats de 80 à 100 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 dans l'eau distillée aux doses suivantes, exprimées en *diamidine non substituée* :

N° 118	0,010 g. p. 100
119, 124	0,015 g. p. 100
120, 125	0,020 g. p. 100
121, 126	0,030 g. p. 100
122, 127	0,035 g. p. 100
128	0,055 g. p. 100

Nous avons vu, au cours de l'étude de la toxicité, que les doses à partir de 0,03 g. étaient 100 p. 100 mortelles et que la dose léthale 50 p .100 était à 0,0075. Ne subsistent pour notre expérience que les Rats n°ˢ 118, 119 et 125.

Epreuve. 29e jour. — Le 1er août (vingt-neuvième jour), ces trois Rats reçoivent par voie sous-cutanée, en même temps qu'un témoin n° 123, un million de *T. equiperdum*.

Ce dernier est positif en quatre jours et meurt en onze.

0,010 g. p. 100, Rat n° 118. — Positif en onze jours, ce Rat meurt en treize jours.

0,015 g. p. 100, Rat n° 119. — Pendant les cent jours de l'observation, ce Rat reste stérile.

0,020 g. p. 100, Rat n° 125. — Positif en quinze jours le 16 août le sang est blanchi le 19, mais à nouveau infecté le 21 et le Rat meurt en septicémie le 25 août en vingt-quatre jours.

CONCLUSIONS. — A l'exclusion d'un Rat traité préventivement par 0,015 g. p. 100 et éprouvé le vingt-neuvième jour, le 4,4' dicyclohexyldiamidinodiphénoxypentane est incapable de produire un état réfractaire à l'infection de *T. equiperdum* chez le Rat blanc pour des temps d'épreuve allant de quinze à trente et un jours et jusqu'aux doses toxiques.

4° Conclusions sur l'effet des substitutions sur le diamidinodiphénoxypentane dans l'activité préventive.

La substitution de restes aliphatiques comme CH_3 ou C_2H_5 ou cycliques comme C_6H_{11} est néfaste à l'action prophylactique chimique de ces diamidines. Seule, la substitution éthylique nous a fourni quelques résultats.

Le dérivé diméthylé n'a pu créer aucun état réfractaire, pas plus que le dérivé cyclohexylé (à l'exception d'un animal). Mais un retard sensible à la maladie peut être porté à l'actif du premier de ces deux corps, le deuxième n'ayant aucun effet. Par contre, la substitution éthylique permet de créer un état réfractaire jusqu'à un mois pour 0,0075 g. p. 100 et si pour

des épreuves plus tardives, les animaux prennent l'infection, ils font alors une maladie de type chronique.

Enfin, c'est grâce au dérivé diéthylé que nous avons pu observer sur quelques animaux une courte maladie sanguine apparente sans rechute ultérieure.

CHAPITRE IX.

ÉTUDE DE L'ACTION PRÉVENTIVE DU 4.4' DIAMIDINODIPHÉNOXYHEXANE ET DE SES DÉRIVÉS SUR LA TRYPANOSOMOSE EXPÉRIMENTALE A *T. EQUIPERDUM.*

A) Etude de l'action préventive du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane.

1° Du Rat.

Expérience n° 27, 21 juin 1946.

Injection préventive. — Cinq Rats de 110 à 140 grammes reçoivent par voie sous-cutanée une solution à 1 p. 1.000 dans l'eau distillée d'Hexamidine aux doses de :

0,00025 g. p. 100 — N° 88
0.00050 g. p. 100 — N° 89
0,00075 g. p. 100 — N° 90
0,0010 g. p. 100 — N° 91
0,0015 g. p. 100 — N° 92

Les injections sont bien supportées.

Epreuve, 5e jour. — Le 26 juin, ces cinq animaux ainsi qu'un témoin n° 93 sont infectés par voie sous-cutanée avec un million de *T. equiperdum.* Le témoin positif en cinq jours, meurt en dix jours.

0,00025 g. p. 100, Rat n° 88. — Positif le 8 juillet (douzième jour après épreuve) ce Rat meurt le 12 (seizième jour).

0,00050 g. p. 100, Rat n° 89. — Pendant les cent jours d'observation, le Rat reste stérile.

0,00075 g. p. 100, Rat n° 90. — Positif le 17 juillet (vingt et unième jour), ce Rat meurt le 21 (vingt-cinquième jour).

0,0010 g. p. 100, Rat n° 91. — Positif le 17 juillet (vingt et unième jour), ce Rat meurt le 20 (vingt-quatrième jour).

0,0015 g. p. 100, Rat n° 92. — Ce Rat reste stérile pendant les cent jours de l'observation.

Expérience n° 16, 16 mai 1946.

Injection préventive. — Dix Rats mâles de 130 à 160 grammes, n°s 11 à 20, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 1000 d'Hexamidine dans l'eau distillée aux doses de :

0,0003 g. p. 100 — N° 11
0,0004 g. p. 100 — N° 12
0,0005 g. p. 100 — N° 13
0,0006 g. p. 100 — N° 14
0,0007 g. p. 100 — N° 15
0,0008 g. p. 100 — N° 16
0,0010 g. p. 100 — N°s 17 et 18
0,0015 g. p. 100 — N°s 19 et 20

Aucune séquelle ne se manifeste à la suite de ces injections.

Epreuve. — Treizième jour. — Le 29 mai 1946, ces dix animaux sont infectés par voie sous-cutanée avec 1 million de *T. equiperdum*, ainsi que deux témoins n°s 21 et 22. Ces deux derniers sont positifs en cinq jours et meurent en sept.

Des Rats éprouvés, aucun ne présente d'état réfractaire.

0,0003 g. p. 100 —	Positif en	5	jours, ce Rat	meurt	infecté en	8 j.
0,0004 g. p. 100 —	»	7	»	»	»	13 j.
0,0005 g. p. 100 —	»	7	»	»	»	12 j.
0,0006 g. p. 100 —	»	14	»	»	»	22 j.
0,0007 g. p. 100 —	»	12	»	»	»	15 j.
0,0008 g. p. 100 —	»	13	»	»	»	19 j.
0,0010 g. p. 100 —	»	13	»	»	»	17 j.
0,0010 g. p. 100 —	»	13	»	»	»	18 j.
0,0015 g. p. 100 —	»	14	»	»	»	23 j.
0,0015 g. p. 100 —	»	31	»	»	»	36 j.

Expérience n° 44, 29 août 1946.

Injection préventive. — Seize Rats reçoivent, par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1/200 dans l'eau distillée aux doses suivantes :

0,003 g. p. 100 — Rats n°s 225, 228, 232, 236.
0,004 g. p. 100 — Rats n°s 229, 233, 237.
0,005 g. p. 100 — Rats n°s 227, 230, 234, 238, 240.
0,010 g. p. 100 — Rats n°s 231, 235, 239, 241.

Les deux Rats 239 et 241 (0,010 g. p. 100) font une escarre au point d'injection et succombent tous les deux le 16 septembre, dix-huit jours après l'injection. Les autres supportent sans troubles apparents les doses injectées.

Epreuve. — Nous répartissons nos animaux en quatre lots que nous allons éprouver respectivement les quinzième, trentième, quarante-quatrième et soixantième jours après la diamidine.

15e jour. — Le 13 septembre, nous inoculons un million de *T. equiperdum* par voie sous-cutanée aux deux Rats 225 et 227, ainsi qu'à un témoin n° 244. Ce dernier, positif en six jours, succombe en dix.

0,003 g. p. 100, Rat n° 225, — Sans parasites jusqu'au 8 octobre,

le Rat est très infecté à l'examen du 11 et succombe ce jour-là vingt-huit jours après l'épreuve.

0,005 g. p. 100, Rat n° 227. — Ce Rat reste stérile pendant les cent jours d'observation. Il est sacrifié toujours stérile le cent trente et unième jour.

30e jour. — Le 28 septembre, nous inoculons de la même manière les Rats n°s 228 à 231 ainsi qu'un témoin n° 269. Celui-ci est positif en quatre jours, meurt en neuf jours.

0,003 g. p. 100, Rat n° 228. — Positif le treizième jour, il meurt le dix-septième.

0,004 g. p. 100, Rat n° 229. — Positif le vingtième jour, il meurt le vingt-sixième.

0,005 g. p. 100. Rat n° 230. — Positif le vingtième jour, il meurt le trente et unième jour.

0,010 g. p. 100, Rat n° 231. — Ce Rat résiste à l'infection d'épreuve pour cent jours d'observation. Il est sacrifié encore stérile le cent seizième jour.

44e jour. — Le 12 octobre, nous infectons comme à l'ordinaire, les Rats n°s 232 à 235, ainsi que le témoin n° 284. Celui-ci est positif en neuf jours et meurt en douze jours.

0,003 g. p. 100, Rat n° 232. — Faiblement positif le 31 octobre (dix-neuvième jour) l'animal est blanchi ensuite jusqu'au 21 novembre où il rechute et meurt infecté le 27 novembre (quarante-sixième jour).

0,004 g. p. 100, Rat n° 233. — Encore blanc le 12 novembre, l'animal meurt en pleine septicémie le 14 (trente-troisième jour après épreuve).

0,005 g. p. 100, Rat n° 234. — Ce Rat reste stérile pour cent jours d'observation.

0,010 g. p. 100. Rat n° 235. — Blanc jusqu'au 4 novembre, il meurt le 10 sans raison.

60e jour. — Le 28 octobre, nous inoculons nos derniers Rats n°s 236, 237, 238 et 240 ainsi qu'un témoin n° 286. Celui-ci meurt infecté en sept jours.

0,003 g. p. 100 —	Rat n° 236 —	Positif en	15 jours,	il meurt en	22 j.
0,004 g. p. 100 —	Rat n° 237 —	»	18 jours,	»	24 j.
0,005 g. p. 100 —	Rat n° 238 —	»	20 jours,	»	23 j.
0,005 g. p. 100 —	Rat n° 240 —	»	20 jours,	»	29 j.

Expérience n° 57, 25 octobre 1946.

Injection préventive. — Huit Rats, de 120 à 140 grammes, n°s 303 à 310 reçoivent par voie sous-cutanée le 31 octobre, une solution 1/200 d'Hexamidine, aux doses de :

0,0025 g. p. 100 — Rats n°s 303, 305, 307, 309.
0,0050 g. p. 100 — Rats n°s 304, 306, 308, 310.

Ils supportent sans lésions apparentes ces injections.

Inoculation d'épreuve. — Toujours par voie sous-cutanée, nous inoculons un million de *T. equiperdum*, respectivement les seizième, trentième, quarante-quatrième et soixantième jours après.

Seizième jour. — Le 16 novembre, les deux Rats 303 (0,0025 g. p. 100) et 304 (0,005 g. p. 100) sont infectés ainsi qu'un témoin. Celui-ci n° 311, positif en deux jours meurt en cinq. Les deux Rats prévenus sont réfractaires.

Trentième jour. — Le 30 novembre, les Rats n°s 305 (0.0025 g. p. 100) et 306 (0,0050 g. p. 100) sont infectés avec un témoin n° 348. Celui-ci est positif en trois jours et meurt en sept.

0,0025 g. p. 100, Rat n° 305. — Positif le 14 décembre (quatorzième jour) il meurt le 18 (dix-huitième jour).

0,0050 g. p. 100, Rat n° 306. — Positif le 30 décembre (trentième jour) il meurt le 6 janvier (trente-septième jour).

Quarante-quatrième jour. — Le 14 décembre, les Rats n°s 307 (0,0025 g. p. 100) et 308 (0,0050 g. p. 100) sont infectés en même temps qu'un témoin n° 370. Celui-ci est positif en trois jours, il meurt en neuf.

0,0025 g. p. 100, Rat n° 307. — Positif en neuf jours, ce Rat meurt après un court blanchiment et une rechute le 6 janvier (vingt-troisième jour).

0,0050 g. p. 100, Rat n° 308. — Positif le 4 janvier (vingt et unième jour), l'animal est blanchi du 7 au 25, jour où il rechute. Il est à nouveau blanchi du 29 janvier au 28 février. L'examen du 4 mars est positif et l'animal meurt le 8 mars en septicémie, quatre-vingt-quatre jours après l'épreuve.

Soixantième jour. — Le 30 décembre, les deux Rats n°s 309 et 310 sont infectés en même temps qu'un témoin n° 372. Celui-ci est positif en trois jours et meurt en cinq.

0,0025 g. p. 100, Rat n° 309. — Positif le cinquième jour, puis blanchi quatre jours, ce Rat rechute et meurt infecté le 11 janvier (douzième jour).

0,0050 g. p. 100, Rat n° 310. — Positif en cinq jours, puis blanchi quatre jours, ce Rat rechute et meurt infecté le 10 janvier (onzième jour).

Expérience n° 17, 21 mai 1946.

Injection préventive. — Huit Rats, n°s 23 à 30, de 95 à 115 g., reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 1000 d'Hexamidine aux doses respectives de :

0,002 g. p. 100 — Rats n°s 23 et 24
0,003 g. p. 100 — Rats n°s 25 et 26
0,004 g. p. 100 — Rats n°s 27 et 28
0,005 g. p. 100 — Rats n°s 29 et 30

Inoculation d'épreuve. — *22e jour.* — Un Rat de chacune des doses ci-dessus est infecté ainsi qu'un témoin n° 31. Celui-ci succombe, infecté, en six jours.

0,002 g. p. 100, n° 23. — Positif en 12 jours, l'animal meurt en 15 j.

0,003 g. p. 100, n° 25. — Positif en 22 jours, l'animal meurt en 26 j.

0,004 g. p. 100, n° 27. — L'animal est réfractaire pour les cent jours qui suivent l'épreuve.

0,005 g. p. 100, N° 29. — Celui-ci reste réfractaire, pour cent jours d'observation.

30e jour. — Le 20 juin, un Rat de chaque dose, est infecté ainsi qu'un témoin n° 32. Celui-ci est positif en cinq jours et succombe en onze jours.

0,002 g. p. 100, Rat N° 24. — Positif en sept jours, ce Rat meurt en dix-huit jours après un court blanchiment de quarante-huit heures et une rechute.

0,003 g. p. 100, Rat n° 26. — Ce Rat est réfractaire à l'infection pour cent jours d'observation.

0,004 g. p. 100, Rat n° 28. — Celui-ci est réfractaire pour cent jours d'observation.

0,005 g. p. 100, Rat n° 30. — Encore blanc le 23 juillet, cet animal présente des parasites le 30 juillet (quarantième jour) et meurt le quarante-huitième jour.

Expérience n° 25, 19 juin 1946.

Injection préventive. — Quatre Rats n°s 68 à 71, de 95 à 115 g. reçoivent par voie sous-cutanée une solution à 1 p. 100 d'Hexamidine aux doses de :

0,0025 g. p. 100 — Rat n° 68
0,0050 g. p. 100 — Rat n° 69
0,0075 g. p. 100 — Rat n° 70
0,0100 g. p. 100 — Rat n° 71

Injection d'épreuve : 22e jour. — Le Rat n° 68 (0,0025 g. p. 100) est éprouvé le 11 juillet ainsi qu'un témoin.

Si ce dernier est positif en cinq jours et meurt en six, le Rat éprouvé présente des parasites le vingt-neuvième jour et meurt le trentième.

30e jour. — Le Rat n° 69 (0,0050 g. p. 100) est éprouvé le 19 juillet ainsi qu'un témoin n° 77 qui est positif en quatre jours et meurt en sept jours. Le Rat éprouvé est positif en quarante-deux jours et meurt en quarante-sept jours.

45e jour. — Eprouvé le 3 août, le Rat n° 70 (0,0075 p. 100) est encore blanc le neuvième jour, mais est retrouvé mort le 16 août (treizième jour).

Le Rat n° 71 (0,010 g. p. 100) infecté en même temps, reste réfractaire pendant les cent jours d'observation.

Expérience n° 19, 29 mai 1946.

Injection préventive : Huit Rats n°s 33 à 36 et 38 à 41, de 100 à 125 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 d'Hexamidine aux doses de :

0,005 g. p. 100 — Rats n^{os} 33-34
0,0075 g. p. 100 — Rats n^{os} 35-36
0,010 g. p. 100 — Rats n^{os} 38-39
0,015 g. p. 100 — Rats n^{os} 40-41

Le Rat n° 40 meurt de toxicité en vingt-huit jours après avoir fait une grosse escarre dorsale.

Epreuve : 45^{e} jour, 0,005 g. p. 100. — Le Rat n° 33 éprouvé le 13 juillet est positif en neuf jours et meurt infecté le 2 août (vingtième jour) alors que le témoin meurt en quatre jours.

55^{e} jour — 0,005 g. p. 100. — Le Rat n° 34 est réfractaire pour cent jours d'observation, après l'épreuve.

0,0075 g. p. 100. — Le Rat n° 35 est également réfractaire.

0,0100 g. p. 100. — Le Rat n° 38 est aussi réfractaire.

90^{e} jour — 0,0075 g. p. 100. — Le Rat n° 36 éprouvé le 27 août (quatre-vingt-dixième jour) est positif en neuf jours et meurt en dix. Le témoin est mort en six jours après une incubation de cinq jours.

0,010 g. p. 100. — Le Rat n° 39 est positif en treize jours et meurt en vingt et un jours.

0,015 g. p. 100. — Le Rat n° 41 est positif en quinze jours et meurt en vingt-quatre jours.

Expérience n° 21 — 31 mai 1946.

Le seul survivant, Rat n° 43 (0,015 g. p. 100) de cette expérience déjà décrite au cours de l'étude de la toxicité de l'Hexamidine, est éprouvé cent dix-neuf jours après l'injection préventive, le 27 septembre. Il est positif en cinq jours et meurt en douze, alors que le témoin meurt en sept jours.

Conclusions générales sur la prévention chez le Rat.

Au tableau suivant, nous voyons que l'injection préventive d'Hexamidine, par voie sous-cutanée, permet de créer un état réfractaire à *T. equiperdum*.

Sur cinquante-cinq animaux essayés, quinze ont résisté à l'inoculation d'épreuve pour des infections provoquées du cinquième au cent dix-neuvième jour après l'injection chimique. Les essais négatifs permettent de voir un très grand parallélisme entre la dose injectée pour une même épreuve et la période d'incubation, celle-ci étant d'autant plus longue que la dose est forte. Chez les animaux non prévenus, les parasites apparaissent entre le cinquième et le quarante-deuxième jour et la maladie est du type aigu ou subaigu.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec la dose de 0,005 g. p. 100 qui permet de prévenir cinq Rats sur onze pour des épreuves du quinzième au cinquante-cinquième jour.

Tableau récapitulatif de la prévention par l'Hexamidine chez le Rat.

Epreuve en jours	Dose en mg. par 100 g. de poids																	
	0,25	0,30	0,4	0,5	0,6	0,7	0,75	0,8	1	1,5	2	2,5	3	4	5	7,5	10	15
5	+12			0			+21		+21	0								
13		+ 5	+ 7	+ 7	+14	+12		+13	13	14								
15									13	31			+28		0			
16												0			0			
22											+12	+29	+22	0	0			
30											+ 7	+14	0 +13	0 +20	20 +30 40 42		0	
44												+ 9	+19	+33	0 +21		?	
45															+ 9		0	
55															0 5	0		
60												+ 5	+15	+18	+20 20			
90																+ 9	+13	+15
119																		+ 5

O = Etat réfractaire. — + = Parasites dans le sang. — Chiffre après le + = durée de l'incubation.

2°) Du Cobaye.

Le Cobaye s'est montré difficilement immunisable par le 4.4' diamidinodiphénoxypentane contre l'infection à *T. equiperdum* et nous n'avons obtenu de résultats favorables que pour des épreuves de courte durée. Le 4.4'diamidinodiphénoxyhexane se révèle-t-il un meilleur agent prophylactique ?

Expérience n° 34 — 16 juillet 1946.

Injection préventive. — Quatre Cobayes n°s 55 à 58, de 410 à 475 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée une solution d'Hexamidine à 1 p. 1.000 aux doses de :

0,0005 g. p. 100 — N° 55
0,0010 g. p. 100 — N° 56
0,0015 g. p. 100 — N° 57
0,0020 g. p. 100 — N° 58

Le Cobaye n° 58 (0,002 g. p. 100) succombe en moins de vingt-quatre heures. Les autres supportent le traitement préventif.

10e jour — 0,0005 g. p. 100. — Le Cobaye n° 55 est éprouvé le 26 juillet avec un million de *T. equiperdum* sous la peau. La virulence des parasites est vérifiée chez un Rat qui succombe infecté en cinq jours. Le Cobaye éprouvé est positif le 20 août (vingt-cinquième jour). Après une période de blanchiments et de rechutes successives, l'animal meurt le 16 novembre, cent treize jours après l'épreuve, alors que le sang présente de nombreux parasites.

31e jour — 0,001 g. p. 100. — Eprouvé le 16 août (trente et unième jour) le Cobaye n° 56 est positif dès le quatrième jour et meurt le 16 octobre (soixante et unième jour).

41e jour — 0,0015 g. p. 100. — Eprouvé le 26 août (quarante et unième jour), le Cobaye n° 57 est positif le septième jour et meurt grouillant de parasites le 26 octobre (soixante et unième jour).

Expérience n° 39 — 2 août 1946.

Injection préventive. — Six Cobayes, n°s 60 à 65, de 320 à 475 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 aux doses de :

0,001 g. p. 100 — Cobaye n° 60
0,002 g. p. 100 — Cobayes n°s 61 - 62
0,0025 g. p. 100 — Cobaye n° 64
0,003 g. p. 100 — Cobayes n°s 63 - 65

Les deux Cobayes 64 (0,0025 g. p. 100) et 65 (0,003 g. p. 100) sont retrouvés morts le troisième jour.

Epreuve. 24e jour — 0,001 g. p. 100. — Le Cobaye n° 60 est éprouvé, par voie sous-cutanée, le 26 août, avec un million de *T. equiperdum* dont la virulence est vérifiée sur la Souris. Le sang de ce Cobaye présente des parasites le 11 septembre (seizième jour) et après une succession de crises lytiques et de rechutes, meurt le 11 novembre, soixante-dix-sept jours après l'épreuve.

29e jour. — Les Cobayes n°s 61, 62 et 63 sont éprouvés, par voie sous-cutanée, le 31 août (vingt-neuvième jour) avec un million de *T. equiperdum* dont la virulence est vérifiée chez la Souris.

0,002 g. p. 100 — Cobaye n° 61. — Cet animal est parasité après une incubation de dix-huit jours et meurt en pleine septicémie le 23 novembre (quatre-vingt-quatrième jour après épreuve).

Cobaye n° 62. — Positif dès le neuvième jour, ce Cobaye meurt très infecté le 4 décembre, quatre-vingt-quinze jours après l'épreuve.

0,003 g. p. 100 — Cobaye n° 63. — Le sang présente les premiers parasites le 28 septembre (vingt-huitième jour) et l'animal meurt le 18 décembre, cent neuf jours après l'épreuve.

Expérience n° 59 — 31 octobre 1946.

Injection préventive : Trois Cobayes mâles n°s 103 à 105 de 340 à 360 grammes reçoivent par voie sous-cutanée, 0,001 g. d'Hexamidine pour 100 grammes. Ils sont éprouvés par un million de *T. equiperdum* inoculés par voie sous-cutanée, respectivement treize, vingt et vingt-sept jours après l'injection préventive.

Epreuve. 13e jour. — Cobaye n° 103. — Après infection le 13 novembre, cet animal, positif en sept jours, meurt après blanchiments et rechutes le 16 janvier 1947, soixante-quatre jours après l'épreuve. Le témoin d'infection, n° 106, meurt en soixante jours.

20e jour — Cobaye n° 104.

Eprouvé le 20 novembre, ce Cobaye est positif à l'examen du dixième jour et meurt le 28 janvier, soixante-neuf jours après l'épreuve. Le témoin d'infection n° 107 meurt en soixante-dix jours.

27e jour — Cobaye n° 105.

Eprouvé le 27 novembre, cet animal est positif en sept jours et meurt en quatre-vingt-dix-neuf jours.

Tableau récapitulatif de l'action préventive de l'Hexamidine chez le Cobaye éprouvé par T. equiperdum.

Epreuve en jours	Dose en mg. p. 100 g.				
	0,50	1	1,50	2	3
10	+25,88				
13		+ 7,57			
20		+10,59			
24		+16,61			
27		+ 7,82			
29				+18,66	+28,81
31		+ 4,57		+ 9,86	
41			+ 7,54		

\+ Infection.
Premier chiffre : Incubation en jours.
Second chiffre : Période d'état en jours.

Conclusions générales sur la prévention chez le Cobaye.

Le 4.4' diamidinodiphénoxyhexane, injecté par voie sous-cutanée, depuis 0,0005 g. à la dose toxique (0,003 g.) pour 100 grammes est incapable de créer un état réfractaire à *T. equiperdum* pour des épreuves allant du dixième au quarante et unième jour. L'incubation et la période d'état sont en général de l'ordre de celle des témoins.

3°) Du Lapin.

Expérience n° 45 — 27 août 1946.

Injection préventive. — Quatre Lapins mâles n°s 29 à 32, de 1900 à 2230 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution d'Hexamidine à 1 p. 100 dans l'eau salée. Les doses injectées sont de 0,02 g., 0,03 g., 0,04 g. et 0,05 g. par kilog de poids. La plus forte dose se révèle toxique et l'animal meurt en trois jours. Les autres supportent bien l'injection.

Epreuve. — Le 27 septembre (trente et unième jour) les trois survivants sont infectés par voie sous-cutanée, par un million de *T. equiperdum* dont la virulence est vérifiée chez le Rat.

Dans les trois cent soixante dix jours qui suivent l'épreuve, aucune des lésions habituelles de la dourine expérimentale du Lapin ne se manifeste sur ces trois animaux. A l'opposé du Cobaye, le Lapin peut être rendu réfractaire à *T. equiperdum* par l'injection sous-cutanée d'Hexamidine.

B) Etude de l'action préventive de dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane.

1°) *Etude de l'action du dérivé tétraméthylé.*

Expérience n° 25 — 19 juin 1946.

Injection préventive. — Quatre Rats, n°s 73 à 76, de 95 à 110 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée, une solution à 1 p. 100 de 4.4' tétraméthyldiamidinodiphénoxyhexane, aux doses suivantes, *exprimées en Hexamidine :*

0,0025 g. p. 100 — Rat n° 73
0,0050 g. p. 100 — Rat n° 74
0,0075 g. p. 100 — Rat n° 75
0,0100 g. p. 100 — Rat n° 76

Les deux fortes doses sont toxiques et les deux Rats succombent en vingt-quatre heures.

Epreuve. — 22e *jour.* — Le Rat n° 73 (0,0025 g. p. 100) est éprouvé le 11 juillet. Il est grouillant de parasites dès le cinquième jour et meurt en sept. Le témoin n° 72 meurt en six jours.

30e jour. — Le Rat n° 74 (0,005 g. p. 100) est éprouvé le 19 juillet. Positif en quatre jours, il meurt en onze. Le témoin n° 77 meurt en sept jours.

Expérience n° 27 — 21 juin 1946.

Injection préventive. — Dix Rats, n^{os} 94 à 98 et 100 à 104 de 100 à 145 grammes, reçoivent par voie sous-cutanée une solution à 1 p. 1000 de ce dérivé aux doses suivantes, exprimées en *Hexamidine :*

0,00025 g. p. 100 — Rats n^{os} 94 et 100
0,00050 g. p. 100 — Rats n^{os} 95 et 101
0,00075 g. p. 100 — Rats n^{os} 96 et 102
0,0010 g. p. 100 — Rats n^{os} 97 et 103
0,0015 g. p. 100 — Rats n^{os} 98 et 104

Ces Rats sont répartis en deux lots, en vue de les éprouver respectivement les cinquième et treizième jours.

Epreuve. 5e jour. — Le 26 juin, les Rats 94 à 98, ainsi qu'un témoin n° 99 sont infectés par voie sous-cutanée, avec un million de *T. equiperdum.* Le témoin, positif en cinq jours, meurt en sept jours.

0,00025 g. p. 100 — Rat n° 94. — Positif en cinq jours, ce Rat meurt en huit jours.

0,00050 g. p. 100 — Rat n° 95. — Positif en cinq jours, ce Rat meurt en treize jours après blanchiment de vingt-quatre heures le 4 et rechute.

0,00075 g. p. 100 — Rat n° 96. — Positif en cinq jours, puis blanchi, l'animal meurt infecté en dix jours.

0,0010 g. p. 100 — Rat n° 97. — Faiblement positif en cinq jours l'animal est blanchi pendant quatre jours, puis rechute et meurt en dix-sept jours.

0,0015 g. p. 100 — Rat n° 98. — Encore blanc le 9 juillet, le Rat est infecté le 11 (quinzième jour) et meurt en seize jours.

Treizième jour. — Le 4 juillet, les Rats 100 à 104 sont infectés comme les précédents, ainsi qu'un témoin n° 105. Celui-ci est en pleine septicémie à la mort le cinquième jour.

0,00025 g. p. 100 — Rat n° 100. — Positif en 4 jours, ce Rat meurt en 6 jours.

0,00050 g. p. 100 — Rat n° 101. — Positif en 4 jours, ce Rat meurt en 6 jours.

0,00075 g. p. 100 — Rat n° 102. — Positif en 4 jours, ce Rat meurt en 7 jours.

0,001 g. p. 100 — Rat n° 103. — Positif en 4 jours, puis blanchi 24 heures l'animal rechute et meurt en douze jours.

0,0015 g. p. 100 — Rat n° 104. — Positif en 4 jours, ce Rat est blanchi ensuite pendant cinq jours, puis rechute et meurt treize jours après l'épreuve.

Conclusions. — Le 4.4' tétraméthyldiamidinodiphénoxyhexane, mauvais agent trypanocide, ne se révèle pas non plus doué de propriétés prophylactiques pour le Rat contre l'infection à *T. equiperdum*. Pour des épreuves du cinquième au trentième jour, tous les essais sont négatifs.

2°) *Etude de l'action du dérivé tétraéthylé.*

Rappelons que cette base est solubilisée par HCl et que les quantités injectées sont *exprimées en Hexamidine*. Nous avons vu, lors de l'étude de sa toxicité, que ce corps était très nettement moins bien supporté que les autres.

Expérience n° 41. — 20 août 1946.

Dans cette expérience, déjà décrite au cours de l'étude de la toxicité, nous n'avions plus à notre disposition que deux Rats n°s 192 et 193, de 90 et 95 grammes, ayant reçu respectivement 0,0005 g. et 0,00075 g. p. 100 en Hexamidine.

Le Rat n° 192 (0,0005 g. p. 100) éprouvé le dixième jour, est positif en quatre jours et meurt en sept jours. Son témoin n° 242 est positif le même jour et meurt en huit jours.

Le Rat n° 193 (0,00075 g. p. 100), éprouvé le quinzième jour, est positif six jours après et meurt infecté neuf jours après l'épreuve.

Le témoin n° 243 est positif en cinq jours et meurt en huit.

Conclusions. — Nous avions déjà vu que les substitutions méthyl et éthyl sur le 4.4' diamidinodiphénoxyhexane abaissaient très nettement l'action trypanocide curative de la diamidine non substituée. L'action prophylactique de ces dérivés se révèle nulle dans nos expériences, bien que nous ayons utilisé des doses jusqu'à la limite de toxicité et que nos épreuves aient eu lieu peu de temps après l'injection préventive.

CHAPITRE X.

RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ APRÈS SURINFECTION CHEZ DES ANIMAUX PRÉALABLEMENT GUÉRIS D'UNE TRYPANOSOMOSE A *T. EQUIPERDUM.*

L'étude d'animaux guéris d'une trypanosomose expérimentale, par un moyen chimique, puis surinfectés (réinfectés, surchargés, suivant les auteurs) a fait l'objet de nombreux travaux sur l'immunité. Nous renvoyons à l'ouvrage de M^lle^ M. Dauzier (l. c.) pour trouver une vaste bibliographie de la question.

Pour notre part, nous n'avons abordé ce sujet que de façon secondaire. Notons qu'au cours du protocole des expériences précédentes, les Rats traités et guéris ou prévenus, ont été surinfectés plus de cent jours après la cure ou l'épreuve ; tous ont pris l'infection immédiatement et sont morts de maladie aiguë.

Nous avons cependant quelques résultats sur le Rat et le Cobaye qu'il nous semble utile de développer, pour des surinfections de moins de cent jours.

A) Expériences sur le Rat, après guérison de ces animaux par l'Hexamidine.

Expérience n° 57. — 25 octobre 1946.

Infection. — Seize Rats, n^os^ 287 à 302, sont infectés par un million de *T. equiperdum*, sous la peau. La septicémie est importante le 31 octobre (sixième jour) au moment où nous les traitons.

Traitement. — Tous reçoivent une solution à 1/200 d'Hexamidine sous la peau, le 31 octobre, aux doses de : 0,0025 g. p. 100 pour les huit premiers ; 0,005 g. p. 100 pour les huit autres. Ces deux doses sont blanchissantes pour tous les Rats.

En même temps, nous injectons la même solution à huit Rats neufs n^os^ 303 à 310, aux doses identiques : quatre Rats à 0,0025 g.

quatre à 0,005 g. p. 100. Ces animaux nous servent à comparer l'action purement prophylactique chimique à l'immunité éventuelle des Rats infectés et guéris.

Surinfection. — Nous partageons nos animaux en quatre lots en vue de surinfecter ceux-ci seize, trente, quarante-quatre et soixante jours après le traitement ou la mise en prévention.

Seizième jour. — Le 16 novembre, les Rats 287 et 288 (0,0025 g.) et 289 et 290 (0,005 g. p. 100) sont surinfectés en même temps que sont éprouvés les deux animaux n^{os} 303 (0,0025 g.) et 304 (0 005 g. p. 100). Un témoin n° 311, infecté simultanément, meurt en pleine septicémie en cinq jours.

Tous les autres animaux résistent à l'infection pour cent jours d'observation.

Trentième jour. — Le 30 novembre, sont infectés dans les mêmes conditions, deux Rats guéris par 0,0025 g. p. 100 (291-292), deux par 0,005 g. (293-294) ainsi que les animaux n^{os} 305 (0,0025 g. p. 100) et 306 (0,005 g. p. 100) qui ont simplement reçu l'Hexamidine. Un témoin n° 348 prend l'infection en trois jours et meurt en sept.

Animaux prévenus :

0,0025 g. p. 100. — Positif en quatorze jours, il meurt en dix-huit.

0,0050 g. p. 100. — Positif en trente jours, il meurt en trente-sept.

Animaux surinfectés.

Les quatre Rats surinfectés résistent à l'infection pendant les cent jours d'observation.

Quarante-quatrième jour. — Le 14 décembre, le troisième lot de Rats est infecté. Le témoin n° 370, positif en trois jours, meurt en neuf.

Animaux prévenus.

0,0025 g. p. 100 — N° 307. — Positif en neuf jours, puis blanchi et rechuté, il meurt en vingt-trois jours.

0,0050 g. p. 100 — N° 308. — Positif en vingt et un jours, puis blanchi il rechute le 25 janvier et est à nouveau blanchi ; enfin il rechute le 4 mars et meurt le 8 (quatre-vingt-quatrième jour après épreuve).

Animaux surinfectés.

0,0025 g. p. 100 — N° 295. — Positif en seize jours, puis blanchi pendant trois semaines, il rechute et meurt infecté en quarante-neuf jours.

N° 296. — Positif en neuf jours, ce Rat meurt en douze.

0,005 g. p. 100 — N° 297. — Positif le trente et unième jour, ce Rat est blanchi jusqu'au quarante-sixième jour, où il rechute mais un nouveau blanchiment survient trois jours plus tard jusqu'au 20 février. Il meurt en soixante-neuf jours, le 21 février.

N° 298. — L'animal est réfractaire pendant les cent jours d'observation.

Soixantième jour. — Le 30 décembre, le dernier lot de Rats est infecté. Le témoin est positif en trois jours et meurt en cinq.

Animaux prévenus.

0,0025 g. p. 100 — N° 309. — Positif en cinq, ce Rat meurt en douze jours.

0,0050 g. p. 100 — N° 310. — Positif en cinq, ce Rat meurt en onze jours.

Animaux surinfectés.

0,0025 g. p. 100 — N° 299. — Positif en dix jours, ce Rat meurt en quinze.

N° 300. — Positif en vingt-six jours, ce Rat meurt en vingt-neuf.

0,0050 g. p. 100 — N° 301. — Positif en vingt-trois jours, ce Rat meurt en vingt-six.

N° 302. — Positif en cinq jours, ce Rat meurt en onze.

Conclusions. — Une certaine immunité peut être créée chez le Rat blanc, guéri par l'Hexamidine de son infection à *T. equiperdum*. Mais le délai de période réfractaire est relativement limité, bien que supérieur à la période durant laquelle les Rats sont prévenus par une injection préventive d'Hexamidine.

A seize jours, les Rats surinfectés comme les Rats prévenus sont réfractaires.

A trente jours, les Rats surinfectés restent réfractaires alors que les prévenus ne résistent pas à l'infection.

A quarante-quatre jours, les Rats prévenus succombent infectés tandis que les surinfectés sont réfractaires ou font une maladie chronique.

A soixante jours, tous succombent infectés avec toutefois une maladie plus longue pour les surinfectés.

Expérience n° 61. — 18 novembre 1946.

Injection infectante. — Six Rats n^{os} 317 à 321 et 279 reçoivent sous la peau un million de *T. equiperdum*. Le témoin, n° 279, positif en cinq jours meurt en sept.

Traitement. — Les cinq autres sont traités respectivement par une injection sous-cutanée de 0,004 g., 0,005 g., 0,006 g., 0,007 g. et 0,008 g. p. 100 d'Hexamidine au cinquième jour de leur maladie, alors que la septicémie est moyenne. Toutes ces doses sont blanchissantes.

Surinfection. — *63e jour.* — Le 25 janvier 1947, tous sont surinfectés sous la peau, par un million de *T. equiperdum* soixante-trois jours après le traitement, ainsi qu'un témoin n° 408 qui meurt en quatre jours.

0,004 g. p. 100. — N° 317. — Positif en 10 jours, ce Rat meurt en 12.

0,005 g. p. 100. — N° 318. — Meurt en 23 jours.

0,006 g. p. 100. — N° 319. — Positif en 26 jours, il meurt en 31 jours.

0,007 g. p. 100. — N° 320. — Positif en 6 jours, puis blanchi et rechuté, il meurt en 27 jours.

0,008 g. p. 100. — N° 321. — Positif en 10 jours, puis blanchi et rechuté, il meurt en 31 jours.

Expérience n° 38. — 25 juillet 1946.

Dans cette expérience de traitement par l'Hexamidine, précédemment décrite, retenons pour ce chapitre le cas de deux Rates n°s 188 et 190 traitées respectivement par 0,003 g. et 0,005 g. p. 100. Après avoir mis bas toutes deux quarante et un et quarante-cinq jours après traitement elles furent surinfectées.

Rate n° 188. — 0,003 g. p. 100. — Surinfectée par 100.000 *T. equiperdum* sous la peau, le 23 septembre 1946 (cinquante-quatre jours après traitement), elle reste à l'abri de l'infection pendant les cent vingt-quatre jours qui suivent. Une nouvelle fois infectée à ce moment (un million) elle prend l'infection en sept jours et meurt en seize.

Rate n° 190. — 0,005 g. p. 100. — Surinfectée par 100.000 *T. equiperdum* sous la peau le 27 septembre (cinquante-huit jours après traitement), elle n'a pris l'infection qu'après une incubation de quatre-vingt-sept jours et est morte infectée en quatre-vingt-dix jours.

B) Expériences sur le Cobaye, après guérison de ces animaux par le 4.4' diamidinodiphénoxypentane (Lomidine ou Pentamidine).

Expérience n° 58. — 25 octobre.

Infection. — Trois Cobayes mâles n°s 98, 99 et 102 sont infectés sous la peau avec un million de *T. equiperdum*. Le n° 102 est conservé comme témoin. Après crises lytiques et rechutes, l'animal meurt le 4 février 1947, cent deux jours après infection. Il présente alors de larges plaques de dépilation sur le museau et le train postérieur.

Traitement. — Les deux autres sont traités par 0,0015 g. pour cent grammes de poids de 4.4' diamidinodiphénoxypentane, le 14 novembre, soit le vingtième jour. En même temps, un Cobaye n° 108 reçoit la même inoculation à titre préventif.

Surinfection. — Le 14 décembre (trentième jour après traitement ou prévention), ces trois Cobayes sont surinfectés avec un

million de *T. equiperdum*. Un témoin est fait le même jour (n° 110).

Le témoin est positif en douze jours et meurt en cent quinze jours.

Le Cobaye prévenu est positif à l'examen du soixante-quatorzième jour et meurt infecté, cent dix-huit jours après l'épreuve.

Les deux autres animaux, Cobayes surinfectés, sont respectivement positifs en neuf et seize jours et meurent en soixante-neuf et quatre-vingt onze jours.

Des expériences précédentes de traitement ou de prévention chez le Cobaye, nous devons rappeler les résulats de surinfection.

Dans l'expérience 22, quatre Cobayes guéris respectivement par 0,0015 g., 0,002 g. et 0,0025 g. p. 100 (2) sont réinfectés soixante-dix-huit jours après ce traitement par 1 million de *T. equiperdum* sous la peau. Trois sur quatre résistent à l'infection ; seul rechute celui guéri par 0.002 g. Les trois réfractaires sont à nouveau infectés suivant le même processus, cent deux jours après la première surinfection, soit cent quatre-vingt jours après le traitement. Tous trois sont positifs en vingt (0,0015 g.), vingt-quatre (0,0025 g. p. 100) et seize jours (0,0025 g.) et meurent en soixante-trois jours (2) et cinquante-six jours.

Dans l'expérience n° 12, un Cobaye guéri par 0,0015 g. p. 100 est surinfecté cent vingt-trois jours après le traitement ; il est réfractaire. Mais à nouveau infecté deux cent vingt-cinq jours après traitement (cent deux jours après la première surinfection), l'animal est positif en huit jours et meurt en soixante-six jours.

Dans l'expérience n° 15, un Cobaye avait pu être guéri par 0 002 g. p. 100. Surinfecté cent quatre-vingt-neuf jours après traitement, il est positif en vingt-neuf jours et meurt en quatre-vingt-quatre jours.

Des animaux prévenus ont également fait l'objet de surinfections ultérieures. Par opposition au cas des Cobayes traités, nous n'avons pas obtenu d'état réfractaire.

Ainsi dans l'expérience n° 20, cinq Cobayes s'étaient montrés protégés contre *T. equiperdum* pour des doses préventives de 0,0005 g., 0,00075 g. et 0,001 g. p. 100, injectées huit jours avant l'épreuve et de 0,0005 g. et 0,001 g. pour une épreuve du quinzième jour. Surinfectés cent quatre-vingt-un et cent quatre-vingt-huit jours après la première épreuve suivant les cas, tous prennent l'infection en une quinzaine de jours et meurent en cinquante-sept jours (2), cinquante-neuf (1) et soixante-quatre jours (2).

Dans l'expérience 11, deux Cobayes s'étaient montrés réfractaires à des épreuves de quinze et quarante et un jours pour des doses préventives de 0,001 g. et 0,0025 g. p. 100. Surinfectés respectivement deux cent quatorze et cent quatre-vingt-huit jours après la première épreuve, tous deux sont positifs en dix jours et meurent en soixante-cinq et soixante jours.

Conclusions.

Comme chez le Rat, nous pouvons créer un état d'immunité chez le Cobaye, contre *T. equiperdum*. Mais il faut que les épreuves ne soient pas trop tardives.

TABLEAU RECAPITULATIF DES CAS DE SURINFECTION CHEZ LE COBAYE.

4.4'diamidinodiphénoxypentane. *T. equiperdum.*

	Dose pour 100 g. en g.	Temps entre le trait. et la surinfection	Résultat	Incubation	Mort	2e surinfection				
						Après traitement	Après 1re surinfection	Résultat	Incubat.	Mort
Animaux traités	0,0015	30 j.	+	9	69					
			+	16	91					
	0,0015	78	0			180	102	+	20	63
	0,0020	—	+	15	64					
	0,0025	—	0			180	102	+	24	63
	0,0025	—	0			180	102	+	16	56
	0,0015	123	0			225	102	+	8	66
	0,002	189	+	29	84					

		Temps entre infection d'épreuve et surinfection	Résultat	Mort
Animaux éprouvés	0,0005	181 j.	+	57
	0,00075	—	+	59
	0,001	—	+	64
	0,0005	188 j.	+	57
	0,001	—	+	64
	0,0025	—	+	60
	0,001	214 j.	+	65

Il est à remarquer la très grande homogénéité dans la durée de la maladie, à chaque fois qu'il n'y a pas d'état réfractaire. Ici, la moyenne est de soixante-cinq jours et demi.

Rappelons que la moyenne de la maladie indiquée plus haut est de soixante-trois jours.

CHAPITRE XI.

LES RATONS NÉS DE MÈRES TRAITÉES PAR L'HEXAMIDINE SONT-ILS RÉFRACTAIRES ?

Mlle M. Dauzier (l. c.), dans son travail sur l'immunité contemporaine d'un traitement chimique dans certaines trypanosomoses s'est quelque peu arrêtée sur l'état réfractaire de Ratons issus de mères elles-mêmes immunisées. Nous ne pouvons que renvoyer à son travail pour avoir un aperçu de la vaste question de l'immunité. Ses propres conclusions sont les suivantes : « Les Ratons nés de mères en état réfractaire présentent aussi celui-ci et, comme pour la mère, il est spécifique pour le germe homologue de l'infection pratiquée chez la mère. L'état réfractaire des Ratons ne dépasse pas vingt à trente jours, cette phase coïncide avec celle de l'allaitement ».

Nos propres expériences, menées incidemment au cours de notre travail, nous ont amené à une conclusion semblable. En voici le protocole.

Expérience n° 50. — Dans un essai de traitement par l'Hexamidine, par voie sous-cutanée (expérience n° 38 du 25 juillet 1946) nous avons pu guérir, entre autres, deux Rates n° 188 et 190 par des doses respectives de 0,003 g. et 0,005 g. p. 100. Ces mères furent fécondées et mirent bas respectivement quarante et un et quarante-cinq jours après le traitement.

Nous avons infecté les Ratons à différents âges : treize, dix-sept, trente, quarante-cinq et quarante-sept jours.

Ratons de la mère n° 188, 0,003 g. p. 100.

La mère a été elle-même surinfectée cinquante quatre jours après le premier traitement; elle est restée à l'abri de l'infection pendant les cent vingt-quatre jours suivants. A nouveau infectée ce jour, elle prend l'infection en sept jours et meurt en seize jours. Elle avait mis bas six Ratons que nous allons infecter avec dix mille parasites *T. equiperdum* par voie sous-cutanée, deux à treize jours, deux à dix-sept, un à trente et un à quarante-cinq jours.

Treize jours. — En même temps qu'un témoin n° 250, nous infectons les deux Ratons n°s 258 et 259 de quatorze et quinze gram-

mes. L'un reste blanc trente-huit jours, mais est retrouvé mort le quarantième jour après l'épreuve. L'autre reste blanc soixante-quatorze jours après l'épreuve. Surinfecté à ce moment, il meurt infecté en six jours.

Dix-sept jours. — Le 27 septembre, les deux Ratons n°ˢ 260 et 261, de quinze et seize grammes, sont infectés, ils restent réfractaires pour une observation de soixante-dix jours. Surinfectés alors, ils meurent en six et huit jours.

Trente jours. — Le Raton 262 de vingt-cinq grammes prend l'infection en huit jours et meurt en onze. Son témoin de trente-cinq grammes n° 283 est mort en sept jours.

Quarante-cinq jours. — Le Raton n° 257 de trente-six grammes prend l'infection en six jours et meurt en huit.

Ratons de la mère n° 190, 0,005 g. p. 100.

La mère a été elle-même surinfectée cinquante-huit jours après le premier traitement; elle a pris l'infection après une incubation de quatre-vingt-sept jours et la mort survient trois jours après. Elle avait mis au monde le 14 septembre cinq Ratons que nous infectons au même âge que les précédents.

Treize jours, n° 264. — Ce raton de 12 grammes reste réfractaire pour une observation de soixante-dix jours. Surinfecté à ce moment, il meurt en septicémie en six jours.

N° 265. — Ce Raton de 12 grammes est positif en trente-deux jours et meurt en trente-quatre.

Dix-sept jours, n° 266. — Ce Raton de 14 grammes est positif en six jours et meurt en neuf alors que son témoin n° 268 meurt en six.

Trente jours, n° 267. — Ce Raton de 21 grammes est positif en sept jours et meurt en onze, alors que son témoin n° 285 meurt en sept.

Quarante-sept jours, n° 263. — Ce Raton meurt infecté en trois jours.

Conclusions. — Deux Rates guéries par l'injection d'Hexamidine, après infection à *T. equiperdum* sont fécondables et mettent bas quarante et un et quarante-cinq jours après traitement. Elles résistent à une surinfection, mais l'une rechute quatre-vingt-sept jours après l'épreuve. Les Ratons présentent dans leurs premiers jours un état réfractaire. A treize jours, trois sur quatre sont encore blancs trente-huit jours après l'épreuve et deux sur les quatre, soixante-quatorze jours après. A dix-sept jours, deux sur trois sont réfractaires, mais à partir de trente jours, l'infection est suivie de septicémie rapide.

CHAPITRE XII.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Dans la première partie de ce travail, nous avons :

1° Etudié la morphologie des micro-organismes dont nous nous sommes servi, c'est-à-dire *T. brucei, T. equiperdum, T. evansi.* Nous adoptons pour les parasites étudiés par nous, l'opinion des auteurs, en particulier celle de Lavier sur la constitution de l'élément chromatique situé dans la partie postérieure de ces cellules. Nous considérons cet appareil chromatique comme constitué par deux éléments : le blépharoplaste et le corps parabasal que nous dissocions.

2° Nous avons apporté des documents sur la toxicité des dérivés organiques des diamidines dont nous étudions l'action thérapeutique curative et surtout l'action préventive. Cette toxicité a été étudiée sur le Cobaye, le Rat, la Souris et le Lapin.

3° Notre chapitre III est consacré à l'étude clinique et biologique de la trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum.* Cette étude a été faite par nous sur le Cobaye, sur la Souris, sur le Rat, sur le Lapin.

Sur le *Cobaye,* nous avons étudié l'évolution de la maladie qui suit soit des infections massives (6 millions de parasites injectés par la voie sous-cutanée), soit des infections sévères (1 million de parasites injectés). La mort après infection est variable ; dans le premier cas, elle s'observe entre trente-huit et quarante-sept jours après l'infection ; dans le second, entre trente-trois et cent quinze jours.

En dehors de ces faits, nous avons noté les modifications de la température, décrit les symptômes externes, étudié les variations de la formule sanguine. C'est ainsi que nous montrons que les éléments à corps de Kürloff diminuent et même disparaissent après l'infection ; une poussée monocytaire précoce se déclenche rapidement et elle se manifeste aussi au moment des poussées trypaniques.

La souche dont nous disposons tue d'une façon régulière la *Souris* et le *Rat*. Dans nos expériences, les Rats mouraient entre cinq et onze jours sans qu'il y ait de différence bien sensible dans cette évolution, selon le taux de parasites injectés.

Nous avons longuement étudié également la symptomatologie de la trypanosomose à *T. equiperdum* chez le *Lapin*. Nous renvoyons aux pages relatives à cette maladie dont il nous est impossible de résumer ici les symptômes. Nous insisterons simplement sur quelques modifications des humeurs. Nous avons étudié les modifications de volume urinaire ainsi que les modifications de la teneur en chlore et en urée de l'urine. Nous avons également étudié l'albuminurie. Cette albuminurie apparaît dans la seconde moitié de la dite maladie. Dans l'étude du sang, nous nous sommes attaché à définir la valeur de l'anémie, les modifications concernant le nombre des globules blancs et le pourcentage des espèces leucocytaires. L'étude de la glycémie nous a montré une hypoglycémie agonique. Nous nous sommes attaché également à déterminer le pouvoir infectant du sang de nos animaux au cours de la maladie.

4° Secondairement, nous avons étudié sur le Cobaye, le Rat et la Souris, les trypanosomoses à *T. brucei* et à *T. evansi*.

5° Dans la seconde partie de ce mémoire, nous apportons les résultats de nos expériences sur la thérapeutique curative et préventive sur différentes trypanosomoses expérimentales du Cobaye, du Rat et du Lapin.

Ainsi, chez le *Cobaye*, infecté par *T. equiperdum* pour un traitement précoce, la dose de 0,0015 g. p. 100 de diamidinodiphénoxypentane est curative. Si le traitement est tardif, il faut inoculer 0,002 g. p. 100 pour stériliser. Si le traitement n'est entrepris que quarante-cinq jours après le début de la maladie, il n'est plus possible d'obtenir d'action curative.

Chez le *Lapin*, avec le même corps, les résultats les meilleurs sont obtenus par l'injection sous-cutanée. Une dose de 0,01 g. par kilo permet de stériliser des Lapins infectés depuis plus d'un mois.

Les *dérivés substitués du diamidinodiphénoxypentane* agissent différemment. Etudiés sur la maladie à *T. equiperdum* du Rat, le dérivé *diméthylé* est curatif à la dose de 0,003 g. p. 100, calculé en diamidine non substituée. Pour le dérivé diéthylé, dans les mêmes conditions de calcul, il faut utiliser

0,004 g. p. 100. Avec le dérivé dicyclohexylé, étudié chez le Rat, il faut atteindre la dose de 0,005 g. p. 100.

Ainsi, la substitution de radicaux méthyl ou éthyl sur la fonction amine ou la substitution du radical cyclohexyl sur la fonction imine diminuent sensiblement l'action trypanocide du diamidinodiphénoxypentane.

6° Dans les chapitre 6, 7 et 8, nous étudions l'action curative du *diamidinodiphénoxyhexane* et de quelques-uns de ses dérivés dans la maladie du Cobaye. L'Hexamidine permet de stériliser à la dose de 0,002 g. p. 100 administrée en deux doses fractionnées à quarante-huit heures d'intervalle et par voie sous-cutanée, une maladie remontant déjà à quarante-quatre jours.

Le dichlorhydrate de 4.4' diamidinodiphénoxyhexane a donc une action trypanocide nette sur *T. equiperdum* du Cobaye, mais la drogue n'agit pas avec la régularité de son homologue inférieur. Par contre, il faut noter que l'Hexamidine permet une cure stérilisante dans des traitements tardifs où échoue le 4.4' diamidinodiphénoxypentane.

Dans la maladie à *T. equiperdum* du *Rat*, le 4.4'diamidinodiphénoxyhexane est un agent trypanocide actif. A la dose de 0,0015 g. p. 100, la stérilisation est toujours obtenue sur des animaux relativement peu infectés. Par contre, chez des Rats très infectés, cette même dose de 0,0015 g. peut permettre parfois d'obtenir une stérilisation ; mais une dose nettement supérieure, 0,004 g. par exemple ne met pas forcément à l'abri d'une rechute tardive.

Chez le *Lapin*, par voie sous-cutanée, l'Hexamidine même à la dose de 0,03 g. par kilo, est incapable de stériliser un Lapin infecté ni même d'enrayer sérieusement l'évolution de la maladie à *T. equiperdum*, lorsque cette infection est traitée tardivement.

Etudiée sur la maladie à *T. brucei du Rat*, nous avons vu que selon la souche, on obtiendrait la stérilisation avec 0,001 g. p. 100 (souche Pasteur) tandis que pour la souche anglaise, même avec 0,004 g. p. 100 la stérilisation n'est pas obtenue.

Dans l'infection du Cobaye à *T. evansi*, l'injection sous-cutanée de diamidinodiphénoxyhexane nécessite pour la guérison une dose de 0,0015 g. p. 100. Cette quantité est trois fois supérieure à celle de la diamidine dérivée du pentane.

7° L'action curative des *dérivés substitués du diamidinodiphénoxyhexane* nous donne en bref les résultats suivants :

Les substitutions en *tétraméthyl* et *tétraéthyl* sur les fonctions amine et imine de l'Hexamidine diminuent l'action trypanocide de ces agents thérapeutiques en même temps que la toxicité est accrue notablement.

8° Le chapitre VIII est consacré à l'étude de la thérapeutique préventive par les diamidines, des trypanosomoses étudiées par nous. Nous rappelons que l'action préventive sur les infections expérimentales à Trypanosoma, à base de diamidines aromatiques a été démontrée pour la première fois par L. Launoy et H. Lagodsky. Notre étude continue donc celle de ces auteurs et la complète.

Nous nous sommes attaché spécialement à l'étude de la prophylaxie chimique par voie sous-cutanée, contre l'infection à *T. equiperdum.*

Chez le Cobaye, avec une dose de *HCl* de *diamidinodiphénoxypentane* de 0,0005 g. p. 100, l'animal est rendu réfractaire pour une infection d'épreuve de huit jours. Avec 0,001 g., l'état réfractaire peut durer quinze jours, mais même avec des doses sub-toxiques de 0,002 g., 0,003 g. p. 100, les cas de protection pour une épreuve au-dessus de trente jours sont exceptionnels.

L'étude chez le *Lapin* nous donne les résultats suivants : Le *HCl 4.4' diamidinodiphénoxypentane,* injecté par voie sous-cutanée à la dose de 0,01 g./kilo détermine un état réfractaire de dix jours. Avec 0,04 g./kilo, l'injection étant faite en deux doses égales à quarante-huit heures d'intervalle, on peut avoir des protections de soixante jours, mais les résultats sont d'ailleurs variables.

9° L'étude de l'action préventive des *dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxypentane* nous permet de dire qu'avec le dérivé *diméthylé,* quelle que soit chez le Rat la dose injectée (jusqu'à 0,0075 g. p. 100) le résultat ne permet qu'un retard de l'évolution, donc pas d'état réfractaire à proprement parler. Par contre, avec le dérivé *diéthylé,* on peut obtenir un état réfractaire d'au moins 30 jours avec une dose de 0,0075 g. p. 100, exprimée en diamidine non substituée. Pour des épreuves plus tardives, l'état réfractaire n'est pas obtenu. Toutefois, l'évolution de la maladie est très retardée.

Le dérivé *cyclohexylé* ne permet pas la provocation d'état réfractaire.

10° L'étude de l'action préventive du *HCl de diamidinodiphénoxyhexane* sur la trypanosomose expérimentale à *T. equiperdum* a donné les résultats suivants chez le *Rat* : sur cinquante-cinq animaux essayés, quinze ont résisté à l'inoculation d'épreuve pour des infections pratiquées du cinquième au cent dix-neuvième jour après l'injection chimique. Ainsi la dose de 0,005 g. p. 100 permet de rendre réfractaires cinq Rats sur onze pour des épreuves pratiquées du cinquième au cinquante-cinquième jour après l'injection du produit chimique. Par contre, le *Cobaye* est un animal difficilement immunisable par le 4.4' diamidinodiphénoxyhexane.

Le *HCl 4.4' diamidinodiphénoxyhexane* est sans aucune valeur sur le *Cobaye* dans l'établissement d'un état réfractaire contre *T. equiperdum* au moins pour des épreuves allant du dixième au quarante et unième jour après l'intervention chimique.

Le *Lapin*, au contraire, peut être rendu réfractaire à *T. equiperdum* par ce même médicament pour des doses variant de 2 à 5 centigrammes par kilo de poids.

11° L'étude de l'action préventive de quelques dérivés substitués du 4.4' diamidinodiphénoxyhexane nous permet les conclusions suivantes : aucune action du *4.4' tétraméthyl-diamidinodiphénoxyhexane* dans la recherche d'une action préventive contre *T. equiperdum* chez le Rat. Même résultat négatif pour le dérivé *tétraéthylé*.

12° Dans les derniers chapitres, nous avons étudié secondairement quel était l'état d'immunité des animaux après surinfection, chez des animaux préalablement guéris d'une trypanosomose à *T. equiperdum*. C'est ici la suite de travaux faits au Laboratoire par Mlle M. Dauzier (1945).

Chez le Rat blanc, guéri par l'Hexamidine d'une infection à *T. equiperdum*, une certaine immunité s'établit. C'est ainsi que seize jours après une surinfection, les Rats prévenus sont réfractaires. Trente jours après, les Rats surinfectés restent réfractaires, alors que les prévenus ne résistent pas à l'infection. Plus tard, par exemple, à quarante-quatre jours, les Rats prévenus sont infectés tandis que les Rats surinfectés sont encore réfractaires ou font une maladie chronique. Mais cet état d'im-

munité chez les Rats surinfectés ne dépasse pas soixante jours. Avec le *diamidinodiphénoxypentane* (Lomidine), on obtient des résultats analogues aux précédents.

13° En dernier lieu, nous ajouterons que des Ratons, nés de mères guéries d'infection à *T. equiperdum* par l'Hexamidine présentent dans les premiers jours qui suivent leur naissance, un état réfractaire à *T. equiperdum*. Cet état ne dépasse pas dix-sept à trente jours. Dans ce chapitre, nous confirmons et étendons les conclusions établies dans la thèse de Mlle Dauzier pour *T. brucei*.

Vu, *le Président de la thèse*,

G. VALETTE.

Vu, *le Doyen de la Faculté de Pharmacie*,

R. FABRE.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
Doyen de la Faculté des Sciences,
Chargé des fonctions de Recteur de l'Académie de Paris,

CABANNES.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Hoare (C. A.). — *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 1934, 28, n° 1, p. 2.
2. Hoare (C. A.). — *Jl Royal Microscopical Soc.*, 1940, 60, p. 26.
3. Hoare et Coutelen (F.). — *Ann. Parasit. Humaine et comparée*, 1933, 11, p. 196.
4. Hoare (C. A.) et Broom (J. C.). — *Trans. of the Royal Soc. of Trop Med. and Hyg.*, 1938, 31, n° 5, p. 517.
5. Lavier (G.). — *C. R. Ac. Sciences*, 1927, 185, p. 1534.
6. Lavier (G.). — *C. R. Ac. Sciences*, 1928, 186, p. 106.
7. Lavier (G.). — *Ann. Parasit. Humaine et Comparée*, juillet I, vol. XI, n° 4, p. 280.
8. Alexeieff (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1910, 69, p. 532.
9. Alexeieff (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1917, 80, p. 512.
10. Minchin (E. A.) — *Quart. Journ. of Micro. sc.*, 1909, 53, f. 4, p. 755, d'après Laveran et Mesnil.
11. Plimmer (H. G.) et Bradford (J. R.). — *Proc. Roy. Soc. B.*, 1899, 65, p. 274, d'après Laveran et Mesnil.
12. Rabinowitsch (L.) et Kempner (W.). — *Zeitsch. Hyg. und Infect*, 1899, 30, p. 251, d'après Laveran et Mesnil.
13. Laveran (A.) et Mesnil (F.). — Trypanosomoses et trypanosomiases, 1912, 2e édition, Masson et Cie, Paris.
14. Laveran (A.) et Mesnil (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1901, 53, p. 329.
15. Rosenbusch (F.). — *Arch. for Protistenk*, 1909, 15, p. 263, d'après Laveran et Mesnil.
16. Curasson (G.). — Traité de Protozoologie vétérinaire et comparée, 1943, t. 1.
17. Wien (R.). — *Ann. of Trop. Med. Parasit.*, 1943, 37, n° 1, p. 1.
18. Allen (J. W.), Burgess (F.) et Cameron (G. R.). — *The Journ. of Path. Bact.*, 1944, 56, n° 2, p. 217.
19. Kirk (R.) et Henry (A. J.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1944, 38, n° 2, 99.
20. Kirk (R.) et Sati (M. et H.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1943, 37, n° 1, 34.
21. Kirk (R.) et Sati (M. et H.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, n° 3 et 4, 83.
22. Napier (L. E.) et Sen (G. N.). — *The indian Medical Gazette*, 1940, 75, n° 12, 720.
23. Lourie (E. M.) et Yorke (W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1937, 31, 435, voir Yorke 1940, *Trans. Roy. Soc. of Hyg. Med. and Hyg.*, 33, p. 463.
24. Lourie (E. M.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1942, 36, p. 113.
25. Napier (L. E.) et Sen Gupta (P. C.). — *The Indian Med. Gazette*, 1943, 78, 177.
26. Fulton (J. D.) et Yorke (W.). — *Ann. of Trop. Med. Parasit.*, 1942, 36, n° 3, 134.
27. Barber (H. J.), Slack (R.) et Wien (R.). — *Nature*, 1943, 151, n° 3821, p. 107.

28. Devine (J.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, **34**, p. 67.
29. Broom (W. A.). — *J. Comm. Trop. Path.*, 1936, **37**, 81.
30. Wien (R.), Freeman (W.) et Scotcher (N. M.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1943, **37**, 19.
31. Van Hoof (L.), Henrard (C.) et Peel (E.). — *Trans. Roy. Soc. of Trop. Med. Hyg.*, 1944, **37**, n° 4, 271.
32. [illegible] — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1939, **33**, p. 289.
33. Launoy (L.) et Lagodsky (H.). — *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1940, vol. **33**, p. 320.
34. Launoy (L.). — *Soc. Pathol. Exot.*, Seance du 12 juillet 1944, *in Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1945, vol. **38**, p. 37.
35. Launoy (L.) et Lagodsky (H.). — *Soc. Pathol. Exot.*, Seance du 11 juin 1945, *in Bull. Soc. Path. Exot.*, 1946, vol. **39**, p. 169 ; *ibid.*, séance du 10 octobre 1945, in *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1946 vol. **39** p. 197.
36. Launoy (L.) et Lagodsky (H.). — *Acad. Pharm. Paris*, seance du 6 mars 1946, in *Ann. Pharm. Fr.*, 1946, vol. IV, n° 2, p. 97.
37. Launoy (L.) et Lagodsky (H.). — *Journ. de Physiol.*, 1946-1947, vol. **39**, p. 49 (manuscrit de decembre 1945).
38. Launoy (L.). — *Bull. Acad. Med. Vet.*, 1946, p. 196.
39. Launoy (L.) et Lagodsky (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946 vol. **140**, n° 23 24, p. 956.
40. Launoy (L.) et Jeanpierre (Cl.). — *C. R. Soc. Pathol. Exot.*, Paris, séances des 12 février et 9 juillet 1947.
41. Fulton (J. D.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1944, **38**, p. 147.
42. Fulton (J. D.) et Yorke (W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1942, **36**, p. 131.
43. Rouget (J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1896, **10**, p. 716.
44. Rouget (J.). — *Rec. Med. Vet.*, 1903, p. 81 d'après Laveran et Mesnil ; *C. R. Soc. Biol.*, 1904, **56**, p. 744, d'après Laveran et Mesnil.
45. Uhlenhuth Hubener et Wolthe. — *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, 1907, **27**, d'après Laveran et Mesnil.
46. Uhlenhuth Hubener et Wolthe. — *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, 1908, **29**, d'après Laveran et Mesnil.
47. Zwick et Fischer. — *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, 1910, **36**, d'après Laveran et Mesnil.
48. Poindexter (H. A.). — *Amer. Journ. Trop. Med.*, 1933, **13**, p. 555.
49. Lagodsky (H.). — Thèse Doctorat Pharm., Paris, 1937, 18 mars.
50. Nocard (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1904, p. 464, d'après Laveran et Mesnil.
51. Nocard (E.). — *Bull. Ac. Med.*, 1900, **64**, p. 154, d'après Laveran et Mesnil.
52. Nattan-Larrier (L.). — *Bull Soc. Pathol. Exot.*, 1921, juillet, **14**, 433.
53. Morrel (C. A.), Chapmann (C. W.) et Aldmark (M. G.). — *Amer. Journ. of Hygiène*, 1937, vol. **25**, p. 282.
54. Perla (D.). — *Arch. Pathol.*, 1935, vol. **19**, p. 505.
55. Kolmes (J.), Schamberg (J. F.) et Raizss (G. D.). — *J. of Inf. Dis.*, 1917, **20**, p. 35.
56. Dubois (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, juillet, **99**, n° 25, p. 656.
57. Soldini (M.). — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1939, **32**, p. 334.
58. Zwick et Fischer. — *Berl. Tierär Wochens*, 1909, p. 685 d'après Curasson.
59. Nicolle (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **122**, p. 1312.

60. Locatelli (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1930, 105, n° 31, p. 449.
61. Lignières. — XIII[e] Congrès Int. Med. Veter., Budapest, 1905, d'après Laveran et Mesnil.
62. Andrews (J.), Johnson (C. M.) et Dormal (V. J.). — *Amer. Jl. Hyg.*, 1930, 12, n° 2, p. 381.
63. Zwemer (R. L.) et Culbertson (J. T.). — *Amer. Jl. Hyg.*, 1939, 29 n° 1, Sect C., 7.
64. Gowe (D. F.). — *The Amer. J. of Trop. Med.*, 1937, 17, p. 401.
65. Kanthack (A. A.), Durham (H. E.) et Blandford (W. F.). — *Hyg. Rundschau*, 1898, p. 1185, d'après Cubasson.
66. Dauzier (M.) (Mlle). — Thèse Doct. d'Etat Pharm., Paris, 1945, 23 mars.
67. Graham (L. W.) et Hutchinson (R. H.). — *Amer. Journ. of Trop. Diseases*, 1914, I, n° 2, 760.
68. Elmassian (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1911, p. 830.
69. Hu (C. H.). — *Amer. Journ. Pathol.*, 1934, pp. 29 et 43.
70. Knowles (R.) et Das Gupta (B. M.). — *Ind. Journ. Med. res.*, 1928, p. 992.
71. Biot (C.), Biot (R.) et Richard (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 1911, 71, 368.
72. Fleig (C.). — *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1911, 71, 527.
73. Schern (K.). — *Arb. K. Gesundh. amt. Berl.*, 1911, 38, 338-387.
74. Schern (K.). — *Zentralb f. Bakt. Orig.*, 1925, 96, 356, 440.
75. Yorke (W.), Adams (A. R. D.) et Murgatroyd (F.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1929, 23, 501.
76. Schern (K.). — *Zentralb f. Bakt. Orig.*, 1929, 111 n° 1/3, 139.
77. Scheff et Hassko (A.). — *Zentralb f. Bakt.*, 1932 p. 420. D'après Cubasson.
78. Zotta et Radacovici (E.). — *Arch. Roumaines Path. Exp. et Microb.*, 1929, 2, n° 1, 55.
79. Nicolicescu. — 1927. Thèse Bucarest.
80. Zotta et Radacovici (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1929, 102, 129.
81. Cordier (M[lle] G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 96, 971.
82. Dubois (A.) et Bouckaert (J. P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 96, 131.
83. Geiger (A.), Kligler (I. J.) et Comaroff (R.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1930, 24, 319.
84. Regendanz (P.). — *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, 1929, 33, 5, 242.
85. Regendanz (P.). — *Zentralb. Bakt. I abt. Orig.*, 1930, 118, 175.
86. Jancso (N. von) et Jancso (H. von). — *Ztschr. f. Immunitätsforsch*, 1935, 86, 1 ; 85, 81.
87. Christophers (S. R.) et Fulton (J. D.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1938, 32, 43.
88. Schern (K.) et Artagaveytia Allende (R.). — *Arch. Soc. Biol. Montevideo*, 1935, 6, 244.
89. Schern (K.) et Artagaveytia Allende (R.). — *Ztsch. f. Immunitätsforsch*, 1936, 89, 21.
90. King (H.), Lourie (E. M.) et Yorke (W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1938, 32, 177 (voir 19).
91. King (H.), Lourie (E. M.) et Yorke (W.). — *Lancet*, 1937, 233, 1360.
92. Browning (P.). — *J. Path. Bact.*, 1938, 46, 323.
93. Lourie (E. M.) et Yorke (W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1939, 33, 289.
94. Hawking (F.). — *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1944, 82, 31.

95. Daubney (R.) et Hudson (J. R.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, 175.
96. Adler (S.) et Tchernomoretz (I.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1939, 33, 313.
97. Adler (S.) et Tchernomoretz (I.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, n° 3 et 4, 199.
98. Adler (S.) et Tchernomoretz (I.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, 9.
99. Adler (S.) et Tchernomoretz (I.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1942, 36, 11.
100. Carmichael (J.). — *Vet. Rec.*, 1942, 54, 158.
101. Carmichael (J.) et R. N. Fiennes (T. W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, 191.
102. Adams (A. R. D.) et Yorke (W). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1939, 33, 323.
102 *bis* Adams (A. R. D.) et Yorke (W.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, 173.
103. Adler (S.) et Rachmilewitz (M.). *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1939, 33, 327.
104. Adams (A. R. D.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, 53.
105. Kirk (R.) et Sati (M. H.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, n°s 3 et 4, 83, 181.
106. Mac Letchie (J. L.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, n° 2, 73.
107. Harding (R. D.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, n° 2, 101.
108. Bowesman (C.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1940, 34, 217.
109. Saunders (G. F. T.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, n° 2, 169.
110. Fulton (J. D.). — *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1944, 38, 78.
111. Van Hoof (L.), Lewillon (R.), Henrard (C.), Peel (E.) et Rodjestvensky (B.). — *Trans. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 1946, 39, n° 4, 327.
112. Claessens (T.). — *Ann. Soc. Trop. Med. Belge*, 1946, 26, 7.

ERRATUM.

Page 191. Dernier paragraphe. Au lieu de : « C'est ainsi que seize jours après une surinfection, les rats prévenus sont réfractaires » ..... lire : « *C'est ainsi que seize jours après un traitement préventif ou curatif, les rats prévenus ou guéris sont réfractaires* ».

DEUXIÈME THÈSE.

Proposition donnée par la Faculté :

Les Facteurs de croissance indispensables à la vie des Protozoaires.

IMPRIMERIE M. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER (31.2160), 1697-47-250.
NOVEMBRE 1947. DÉPÔT LÉGAL, 4e TRIMESTRE, N° 3682.